N° 71.

RECHERCHES

SUR LES

MICROBES DE L'ESTOMAC

A L'ÉTAT NORMAL

ET LEUR ACTION SUR LES SUBSTANCES ALIMENTAIRES

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 25 juillet 1888

Par J.-Émile ABELOUS

Né à Bédarieux (Hérault)

Ancien Aide de Physiologie à la Faculté de Médecine.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

MONTPELLIER

TYPOGRAPHIE ET LITHOGRAPHIE CHARLES BOEHM

ÉDITEUR DU MONTPELLIER MÉDICAL,

DE LA GAZETTE HEBDOMADAIRE DES SCIENCES MÉDICALES.

10, RUE D'ALGER 10,

1888

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. CASTAN..... Doyen
GRASSET..... Assesseur

PROFESSEURS :

Physique médicale	MOITESSIER (✻).
Médecine légale et Toxicologie	JAUMES
Clinique chirurgicale	DUBRUEIL (✻).
Chimie médicale et Pharmacie	ENGEL.
Hygiène	BERTIN-SANS.
Clinique médicale	CASTAN.
Clinique médicale	GRASSET.
Physiologie	LANNEGRACE.
Clinique obstétricale et Gynécologie	DUMAS (Léon).
Clinique chirurgicale	TEDENAT.
Opérations et Appareils	GRYNFELTT.
Pathologie externe	CHALOT.
Anatomie pathologique et Histologie	KIENER (✻).
Anatomie (Chargé du Cours)	GILIS.
Thérapeutique et Matière médicale	HAMELIN. (✻).
Clinique des maladies mentales et nerveuses	MAIRET.
Botanique et Histoire naturelle médicale (Ch. du Cours)	GRANEL.
Pathologie interne	N...

Doyen honoraire : M. J. BENOIT (O. ✻ ✠)
Professeurs honoraires : MM. MARTINS (O ✻), DUPRÉ (✻ C ✠), CAVALIER (✻).

CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUES ANNEXES :

Clinique des maladies des enfants	MM. BATLLE.
Clinique des maladies syphilitiques et cutanées	GAYRAUD.
Clinique ophtalmologique	TRUC.
Clinique des maladies des vieillards	MOSSÉ.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM. CARRIEU.	MM. BLAISE.	MM. TRUC.
MAIRET.	BAUMEL.	GERBAUD.
BIMAR.	VILLE.	GILIS.
MOSSÉ (✻).	GRANEL.	MALOSSE.
REGIMBEAU ✻.	FORGUE.	BROUSSE.

MM. GOT, *Sécrétaire.*
F.-J. BLAISE, *Secrétaire honoraire.*

EXAMINATEURS DE LA THÉSE :

MM. LANNEGRACE, *président* ;
KIENER, professeur ;
CARRIEU, agrégé.
BIMAR, agrégé.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur, qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE ET DE MON GRAND-PÈRE

A MON PÈRE

A MON FRÈRE

A MA GRAND'MÈRE

A MON ONCLE Jacques AUBRESPY

A MON ONCLE Mathieu BONPAIRE

A MES PARENTS

A MES AMIS

E. ABELOUS.

A Monsieur le Docteur BOISSIER

Médecin inspecteur aux Eaux de Lamalou.

A MON AMI le Docteur FRANÇOIS BOISSIER

A Monsieur le Docteur PAUL FRANÇOIS

Chef des Travaux de Physiologie.

A MON AMI le Docteur V. GOMBERT

Préparateur de Physiologie.

E. ABELOUS.

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE,

Monsieur le Professeur LANNEGRACE

E. ABELOUS.

PRÉFACE.

Dans le cours de ses Leçons sur la Nutrition, faites il y a deux ans, mon Maître, M. Lannegrace, insista tout particulièrement sur le rôle des ferments organisés dans les phénomènes qui se passent dans le tube digestif. Il montra combien la connaissance précise de la biologie des infiniment petits pouvait jeter de lumière sur bien des points obscurs de l'histoire de la digestion. Déjà M. Duclaux, dans ses Notes à l'Académie en 1882 et dans son *Traité de Microbiologie* (1883), avait très clairement mis en évidence l'action de certains microbes sur les substances albuminoïdes et hydrocarbonées, et spécialement sur un liquide organique complexe : le lait. Frappé de ces résultats, il me parut intéressant d'étudier l'action des microbes de la salive sur les aliments. J'avais déjà commencé ce travail, lorsqu'à la fin de l'année 1885 parut, dans les *Archives de Physiologie*, un Mémoire de Vignal sur le même sujet. Abandonnant alors mon projet primitif, je résolus, suivant les conseils de M. Lannegrace, d'isoler les microbes qui se trouvent dans l'estomac à l'état normal, d'étudier, *in vitro*, leur action sur des substances alimentaires simples. Si j'ai entrepris un travail de cette nature, travail quelquefois difficile, toujours long et délicat, c'est que j'étais assuré de trouver auprès de M. Lannegrace deux choses qui ne m'ont jamais fait défaut : un concours bienveillant et des conseils éclairés. Grâce à la libérale et gracieuse hospitalité que j'ai reçue dans son laboratoire pendant plus de deux années, j'ai pu mener ces recherches à bonne fin. Mon plan primitif était d'étudier d'abord le rôle des microbes de

l'estomac dans la digestion, et en second lieu leur action pathogénique sur certains animaux. Des circonstances particulières et les limites forcément étroites d'une Thèse inaugurale ne m'ont permis de réaliser que la première partie de ce programme. Mais, même dans ce travail ainsi réduit, j'ai été forcément incomplet. J'aurais dû, en effet, étudier d'une façon précise les transformations profondes que les microbes peuvent faire subir aux substances alimentaires, suivre pas à pas les étapes de la matière organique jusqu'à ses modifications ultimes. Mais c'était là de la chimie très délicate, obscure encore, et par conséquent au-dessus de ma compétence. Aussi n'ai-je pu donner sur ces points que des indications, ne pouvant et ne voulant d'ailleurs que faire œuvre de physiologiste.

Que mon excellent Maître, M. Lannegrace, reçoive l'expression de ma profonde gratitude pour la sollicitude amicale qu'il m'a témoignée, pour le bienveillant concours qu'il m'a toujours prêté. Les débuts d'un bactériologiste aussi novice que je l'étais quand j'ai entrepris ces recherches sont pénibles et difficiles : M. Lannegrace m'a aplani toutes les difficultés. Enfin j'ai trouvé dans mon ami Gombert, préparateur de physiologie, un collaborateur dévoué de la première heure. Initié à peu près en même temps que moi à la technique bactériologique, il a été pour moi un auxiliaire très précieux. C'est à son obligeance ainsi qu'à celle de mon ami Cannac, aide de physiologie, que je dois les dessins qui complètent mon travail; qu'ils reçoivent tous deux mes plus cordiaux remerciements!

RECHERCHES

SUR LES

MICROBES DE L'ESTOMAC

A L'ÉTAT NORMAL

ET LEUR ACTION SUR LES SUBSTANCES ALIMENTAIRES

LES MICROBES DU TUBE DIGESTIF.

INTRODUCTION.— COUP D'ŒIL HISTORIQUE.

Depuis que les magnifiques travaux de Pasteur ont montré le rôle capital des ferments organisés dans certaines décompositions organiques, l'attention des physiologistes a été attirée du côté du tube digestif, et on a été naturellement conduit à se demander si les microbes qui se trouvent en grand nombre dans la bouche, l'estomac et l'intestin ne seraient pas des facteurs importants dans les actes de la digestion. Les études sur ce sujet sont cependant toutes récentes. Les premières recherches bactériologiques, en effet, ont eu pour objectif l'étiologie et la pathogénie des maladies. Les résultats si remarquables obtenus dans ce domaine, la découverte de nombreux microbes pathogènes, de l'atténuation des virus, ont à peu près exclusivement capté l'attention et donné naissance à cette opinion

(vraie dans beaucoup de cas), à savoir : que le microbe, c'était l'ennemi. Or une observation attentive des faits montre qu'à côté des parasites nocifs, il y a des parasites utiles, en particulier dans le travail de la digestion. Certains microbes, agissant en effet énergiquement sur les substances albuminoïdes ou hydrocarbonées, doivent intervenir, pour une certaine part, dans ces transformations organiques qui constituent la digestion. Mais, pour entreprendre des recherches de cette nature, il fallait que la bactériologie s'appuyât sur des bases solides, que l'expérimentateur eût en sa possession une technique sûre et précise, lui permettant d'isoler rapidement, de caractériser morphologiquement et biologiquement chaque espèce microbienne. L'emploi des liquides colorants, des cultures sur milieux solides, en usage aujourd'hui, remplit ce désidératum. Aussi les recherches se multiplient, les résultats s'accumulent, et il est permis d'espérer que, dans un jour peu éloigné peut-être, la physiologie de l'appareil digestif ne présentera plus ces lacunes et ces obscurités, si nombreuses encore aujourd'hui.

Ce qui frappe en effet, tout d'abord, quand on lit dans les traités de physiologie, même les plus récents, les chapitres consacrés à la digestion, c'est la diversité des conclusions à laquelle aboutissent la plupart des auteurs. Si les faits les plus généraux présentent une concordance satisfaisante, que de divergences dans une foule de détails ! Pour ne citer qu'un exemple, on est unanime à accorder à la salive un pouvoir saccharifiant ; mais quand il s'agit de dire si telle ou telle salive, parotidienne, sous-maxillaire ou sublinguale, transforme l'amidon en dextrine et maltose, le désaccord éclate. Pour ne pas remonter bien haut dans l'histoire de la salive, nous voyons que Cl. Bernard refuse toute action saccharifiante aux salives partielles et ne l'accorde qu'à la salive mixte. D'autres auteurs ont observé des faits différents : Jaccubowitch prétend qu'un mélange de salive parotidienne et de mucus buccal agit très

peu ; Bidder et Schmidt affirment qu'un pareil mélange agit rapidement et énergiquement.

Pour Grützner, la salive sous-maxillaire serait inactive chez tous les rongeurs, à l'exception du cobaye ; Oëhl l'a trouvée très active chez le lapin. Chez le chien, elle agirait plus énergiquement que la salive parotidienne, d'après Astachewsky, tandis que pour Eckard, Hoppe-Seyler, etc., elle serait à peu près inactive. « Veut-on, dit Duclaux, isoler de la salive sa diastase pour en étudier les propriétés, on trouve que les procédés de préparation conduisent à des corps différents, exerçant tous plus ou moins leur action saccharifiante sur l'amidon, mais dont certains transforment la salicine en saligénine e en glucose avec autant de facilité que l'émulsine et d'autres même qui dédoublent le tannin en acide gallique et en glucose. » Cl. Bernard constate que la salive bouillie n'a plus d'action, mais que son pouvoir diastatique reparaît au bout de quelques jours ; que la salive sous-maxillaire, d'abord inactive, devient active après quelque temps de séjour à l'étuve ; que d'ailleurs d'autres liquides, comme celui des kystes de la grenouillette, des hydrocèles, l'urine, le sérum sanguin, peuvent, au bout de quelque temps, saccharifier l'amidon. Aussi Cl. Bernard est-il obligé de conclure que le pouvoir diastatique de la salive est dû à une altération. Si j'insiste un peu longuement peut-être sur ces détails de l'histoire de la salive, c'est pour montrer combien il est difficile d'élucider un fait physiologique, si l'on ne tient pas minutieusement compte de toutes les conditions dans lesquelles il se produit. Ce que je dis de la salive, je pourrais le dire du suc gastrique ou du suc intestinal. La salive, semble-t-il, est le liquide de l'organisme dont il est le plus facile d'étudier les propriétés, et cependant on voit combien les conclusions des physiologistes les plus éminents sont différentes. Ce qui faisait varier les résultats, c'était un facteur important, dont on ne tenait pas compte ; je veux parler des *microbes*, que l'on trouve non seulement à la surface

de la muqueuse buccale, mais même jusque dans les culs-de-sac glandulaires. Ce sont les diastases sécrétées par ces microbes qui, mêlées aux diastases glandulaires, produisaient cette complexité et cette variété d'effets. Et l'intervention des micro-organismes est tellement inéluctable, que Duclaux en arrive à se demander si l'on n'a pas exagéré l'importance fonctionnelle de la salive proprement dite, c'est-à-dire du liquide sécrété par les parotides, les sous-maxillaires et les sublinguales, et si ce suc ne serait pas simplement destiné à lubrifier les aliments et à faciliter l'exercice du goût.

L'étude des micro-organismes du tube digestif est dont très importante en ce sens qu'elle peut et doit éclairer d'un jour tout nouveau bien des phénomènes obscurs. Frappé des expériences de Pasteur sur la fermentation lactique et butyrique, Milne-Edwards émettait déjà, en 1862, l'opinion suivante, bien hardie pour l'époque :

«On se trouve conduit à penser, écrivait-il, que les phénomènes de fermentation lactique et butyrique qui se manifestent dans le tube digestif pourraient bien dépendre de l'action des *infusoires* (*sic*) qui vivent et se multiplient dans l'intérieur de ce canal ; hypothèse qui nous permet d'expliquer l'origine des deux principaux gaz qui se trouvent dans cet organe, savoir : l'hydrogène et l'acide carbonique.»

En effet, la présence de gaz tels que l'hydrogène sulfuré, l'hydrogène carboné, l'acide carbonique, dans l'intestin, est un argument très sérieux en faveur du rôle des microbes, car ces gaz, que l'on trouve dans tous les processus de fermentation où interviennent les anaérobies, aucune diastase connue ne peut les produire en quantités appréciables et les sucs digestifs normaux n'en apportent que des proportions non mesurables (Duclaux).

En second lieu, l'existence dans le tube digestif des nombreux produits de décomposition des substances albuminoïdes, comme la leucine, la tyrosine, la butalanine, le glycocolle, les acides

gras acétique, lactique, butyrique, l'indol, le phénol, le scatol, milite également dans ce sens. Il n'y a pas de ferments solubles, en effet, capables de produire des dislocations moléculaires aussi considérables [1]. Les diastases n'ont qu'une action *superficielle*, si je puis ainsi dire, sur les aliments, une action simplement *hydrolitique*, comme disent les Allemands. C'est Duclaux, le premier, qui a mis en lumière ce fait, à savoir : *que les produits de transformation avancée sont l'œuvre des ferments ou des cellules vivantes*. On est donc conduit à accorder un rôle important aux microbes, dans les mutations organiques dont le tube digestif est le théâtre. Pour Pasteur, ce rôle est capital. En effet, rendant compte à l'Académie des Sciences des travaux de Duclaux « *sur la germination dans un sol riche en matières organiques, mais exempt de microbes* », il déclare que « depuis des années il désirait voir un expérimentateur tenter d'élever un animal, mis dans un air pur dès sa naissance, avec une nourriture privée de germes, car il était convaincu que la vie, dans ces conditions, deviendrait impossible ». Cette assertion n'est-elle pas trop absolue ? Il est à peu près certain que l'absence de ferments organisés dans le tube digestif y entraînerait l'absence ou, tout au moins, la diminution de ces produits de décomposition plus ou moins avancée dont je parlais plus haut ; mais l'effet *immédiatement utile*, c'est-à-dire la transformation des aliments en substances solubles et absorbables, persisterait, car il serait injuste de dénier aux cellules glandulaires de l'organisme un pouvoir diastatique que l'on accorde aux microbes. Quoi qu'il en soit, le problème tel qu'il est posé par Pasteur me paraît fort

[1] Les sucs que sécrètent les cellules glandulaires pendant la digestion sont très riches en leucine, tyrosine... et autres produits de la vie cellulaire. Pratiquement pourtant, on peut voir que les liquides digestifs n'étant jamais déversés en très grande abondance, et étant en partie resorbés après leur action, les produits de décomposition qu'on trouve dans le canal intestinal proviennent surtout de la vie des microbes. (Duclaux ; *Microbiologie*, pag. 792.)

difficile à résoudre. Mais il est un autre moyen de se faire une idée du rôle des bactéries dans la digestion, c'est d'isoler les microbes du tube digestif et d'étudier leur action sur des substances alimentaires stérilisées. Les transformations qui se produiront ne pourront évidemment être attribuées qu'aux microbes, et leur importance montrera d'une façon *relative* l'importance de l'action bactérienne dans la digestion. Je dis *relative*, parce qu'il est clair qu'on ne saurait établir un parallèle rigoureux entre l'action des bactéries *in vitro*, et leur action dans le tube digestif, où des diastases multiples interviennent, où les premiers produits formés sont enlevés presque immédiatement et ne gênent pas l'action ultérieure. De plus, dans nos vases d'expérience, la matière alimentaire n'est pas préparée, élaborée comme elle l'est par les sucs digestifs, et l'attaque en sera par suite plus difficile. On ne saurait donc conclure, d'une façon absolue, de ce qui se passe dans ces fermentations artificielles, à ce qui se passe dans le tube digestif. Mais cette action *in vitro* nous fournira des résultats intéressants, sinon pour la quantité, du moins pour la qualité des produits que nous trouverons, et dont la présence dans l'intestin pourra dès lors être expliquée.

C'est à Pasteur et à Duclaux, à toute l'École microbiologique française, que revient l'honneur d'avoir provoqué un mouvement de recherches dans ce sens, recherches qui, quoique encore dans l'enfance, sont déjà fécondes en résultats intéressants.

Il faut dire qu'on connaissait depuis longtemps l'existence d'infiniment petits dans le tube digestif, puisque il y a plus d'un siècle *Leuwenhoëck*, dans une lettre à sir Arton, signalait la présence de ce qu'il appelait des animalcules dans le tartre lingual et dentaire. A une époque beaucoup plus récente, de nombreuses recherches ont été faites, mais surtout au point de vue pathologique, sur les microbes de la bouche. Pour l'historique et l'exposé des résultats obtenus, je renvoie au Mémoire de Vignal, que j'ai déjà cité, et je me contente de nommer Goodsir, Robin,

Rapin, Rasmussen, Pasteur, Sternberg, Fraenckel, Kreilbhom et Miller. Les recherches de ce dernier ont une certaine importance au point de vue qui nous occupe. Miller a isolé 25 espèces de bactéries dans la bouche (12 coccus et 13 bacilles). Il attribue la carie dentaire à quelques-uns de ces microbes, parmi lesquels certains produisent la fermentation lactique des matières féculentes et sucrées. Ainsi, un *coccus* qu'il désigne par la lettre α forme, aux dépens du sucre, de grandes quantités d'acide lactique (75 °/₀). D'autres bactéries isolées par lui jouissent de la propriété d'intervertir le sucre de canne. Les recherches sur les matières fécales sont déjà nombreuses, mais elles ont donné des résultats peu concordants. *Nothnagel* signale la prédominance des coccus dans les selles solides, celle des bacilles dans les selles liquides. Il a constaté, dans les fèces, la présence du *Bacillus subtilis*, d'un *Saccharomyces*, d'un bacille analogue au *Bacillus butyricus*, d'un autre bacille oviforme formant des chaînettes, enfin rarement du *Bacillus ulna*. Les recherches de *Nothnagel* ont été faites à l'aide de l'examen microscopique seul. Celles de *Bienstock*, *Brieger*, *Escherich*, faites avec les méthodes de culture de *Koch*, sont plus importantes. Bienstock prétend n'avoir jamais rencontré de microcoques dans les selles. Par des cultures sur l'agar-agar peptonisé, il a pu isoler 5 espèces de bacilles, parmi lesquels deux paraissent jouer un rôle important dans la décomposition des substances alimentaires. L'un, le *Bacillus putrificus coli*, décompose l'albumine en donnant naissance aux produits habituels de cette décomposition : peptones, leucine, tyrosine, acides gras volatils, ammoniaque, produits aromatiques, tels que phénol, indol, scatol, le tout avec dégagement d'hydrogène sulfuré. L'autre bacille agit spécialement sur les solutions sucrées, en produisant de l'alcool et de l'acide lactique. *Brieger* signale dans les selles la présence d'un *coccus* qui décompose le sucre de raisin et le sucre de canne, en donnant naissance à de l'alcool éthylique et à de l'acide acétique parfois. Il décrit aussi un bacille

très petit, le *Bacillus cavicida*, qui transforme les solutions sucrées en produisant de l'acide propionique ; enfin il signale un bacille chromogène qui produit une matière colorante vert bleuâtre. *Escherich* a étudié spécialement les matières fécales des nourrissons ; il y a trouvé 9 espèces de bactéries : 2 microcoques et 7 bacilles. L'un de ces microbes, le *Bacterium coli commune*, coagule lentement le lait et fait fermenter le glucose. Cornil et Babes ont isolé du mucus intestinal normal 5 bacilles dont ils n'indiquent ni les propriétés physiologiques, ni les propriétés pathologiques.

Le travail le plus récent et, sans contredit, le plus complet et le plus méthodique, est celui de *Vignal* sur : *les Micro-organismes de la bouche et des matières fécales et leur action sur les substances alimentaires.* Ce travail a été pour moi un guide très utile. Vignal a décrit avec soin les microbes qu'il a isolés, les colonies qu'ils forment sur la gélatine, l'aspect de leurs cultures sur la gélose, le sérum sanguin, les pommes de terre et dans les bouillons de veau neutre et acidifié à 1/1000. Dans le tartre lingual et dentaire, il a isolé 19 espèces de microbes. Certaines de ces bactéries sont déjà connues ; ce sont : les *Staphylococcus aureus* et *albus*, le *Bacterium termo*, le *Bacillus subtilis*, le *Bacille de la pomme de terre*, le *Leptothrix buccalis*, le *Vibrio rugula*, le *Micrococcus Pasteuri*.

Il désigne les autres bactéries, inconnues ou non décrites avant lui, par les lettres *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, etc... Dans les matières fécales, il a isolé 10 espèces, dont 6 existaient aussi dans la bouche. Contrairement à l'assertion de Bienstock, parmi les 4 autres, il a trouvé 2 *coccus* et 2 bacilles, qu'il désigne par les lettres *w*, *x*, *y*, *z*. L'action de ces microbes sur les aliments est des plus intéressantes : 7 dissolvent plus ou moins rapidement l'albumine ; 5 la gonflent ou la rendent transparente ; 10 dissolvent la fibrine ; 5 la rendent transparente ou la gonflent ; 8 dissolvent le gluten ; 4 transforment l'amidon ou paraissent vivre

à ses dépens ; 9 coagulent le lait ; 6 dissolvent la caséine ; 14 transforment le lactose en acide lactique ; 11 intervertissent le sucre de canne ; 10 font fermenter le glucose et le transforment plus ou moins énergiquement en alcool. Ses conclusions finales corroborent l'opinion de Pasteur et de Duclaux, relativement à l'importance du rôle des microbes dans la digestion.

J'arrive maintenant à l'objet de ce travail, c'est-à-dire aux *microbes de l'estomac*. Malgré les recherches bibliographiques minutieuses que j'ai faites, je n'ai trouvé qu'un seul auteur qui ait fait de ces microbes une étude spéciale : c'est *de Bary* [1]. Dans 17 cas, il a cherché, soit dans les liquides de lavage, soit dans les matières vomies (de préférence dans celles qui venaient après que l'estomac s'était vidé d'aliments), les microbes. Il a trouvé en fait d'organismes inférieurs : 1° une sarcine (*Sarcina ventriculi*) ; 2° plusieurs champignons, entre autres l'*Oïdium lactis* ; 3° le *Bacillus amylobacter* ; 4° le *Leptothrix buccalis*; 5° le *Bacillus geniculatus*. Ce dernier était très fréquent. Il ressemble au *Bacillus subtilis*. C'est un bâtonnet volumineux, présentant des spores endogènes ovalaires dont le grand axe est parallèle à l'axe du bâtonnet. Ces bacilles, souvent unis par deux, sont inclinés l'un sur l'autre sous un angle plus ou moins ouvert. Ils forment sur les solutions nutritives des membranes plates s'enfonçant au moment de la sporulation. De Bary ne décrit pas les caractères de ses cultures sur la gélatine ; il mentionne seulement, en passant, qu'il la liquéfie. Cette étude a d'ailleurs été faite surtout au point de vue morphologique, et dans beaucoup de cas il a analysé le contenu d'estomacs malades. L'auteur arrive à une conclusion intéressante en ce qu'elle est en contradiction avec les idées de Pasteur sur l'importance du rôle des

[1] Archiv. für experimentelle Pathologie und Pharmacologie, tom. XX, pag. 243-271.

bactéries. « Il regarde comme erronée la conclusion souvent déduite de la seule existence des bactéri es dans le tube digestif à savoir : que les organismes inférieurs du tube intestinal ont une importance dans les fermentations ou dans la production des maladies. »

A part ces recherches de de Bary, je n'ai trouvé aucun mémoire, aucun article spécial sur les microbes de l'estomac. Pourtant, il y a dans cet organe des microbes assez nombreux. La plupart résistent fort bien au suc gastrique. Les bactéries que l'on trouve dans l'intestin ont, comme principale origine, ces microbes réfractaires au suc gastrique et dont beaucoup peuvent vivre sans air. Connaître les microbes de l'estomac, c'est donc connaître dans une certaine mesure les microbes de l'intestin. Il est naturellement impossible d'étudier ceux-ci chez l'homme vivant [1]. D'autre part, la recherche des bactéries intestinales n'étant possible, dans la plupart des cas, qu'un assez long temps après la mort, c'est-à-dire dans un délai permettant à la putréfaction d'envahir le tube intestinal, on comprendra pourquoi j'ai choisi comme sujet de recherches les microbes de l'estomac.

Je n'aurais garde d'oublier, en terminant cet aperçu historique, les recherches faites par M. Béchamp et par un Maître vénéré, M. Estor.

Ces travaux, sur lesquels on fait un silence qui me paraît injuste, sont cependant très importants : ils embrassent la physiologie de l'appareil digestif tout entier. L'idée qui les a inspirés est une idée large et philosophique, et si un contrôle expérimental sévère ne confirme pas toutes les conclusions des auteurs, ces recherches n'en constituent pas moins une tentative originale féconde en résultats intéressants. On sait que, pour Béchamp et Estor, tous les éléments anatomiques sont réductibles à un élé-

[1] Excepté dans les cas de fistule.

ment dernier de divisibilité physiologique, primordial, essentiel : le MICROZYMA. C'est lui qui est la partie essentiellement active de la cellule. Je ne saurais mieux faire, du reste, que de renvoyer, pour l'étude générale des microzymas, au Mémoire de M. Estor, intitulé : *De la Constitution élémentaire des tissus,* Mémoire dans lequel notre regretté Maître a développé des idées très originales et très profondes sur l'anatomie et la physiologie générales. Estor et Béchamp ont trouvé ces microzymas répandus en grand nombre dans le tube digestif et ses annexes. Ils ont observé que ces granulations, mises en contact avec des substances albuminoïdes ou hydrocarbonées, les transformaient rapidement à la façon des diastases. Ils ont cru, et c'est là une hypothèse non démontrée, que ces microzymas sécrétaient des diastases absolument comme les cellules glandulaires, alors qu'en réalité ils sont simplement chargés de ferments solubles. Une des propriétés caractéristiques des diastases, en effet, c'est d'adhérer à tous les corps solides présents dans le liquide où elles se trouvent en solution. Quand on détermine un précipité dans la salive par l'acide phosphorique et la chaux, la ptyaline se fixe sur les particules minérales du précipité. Les granulations organiques jouent dans le tube digestif le rôle de ces particules minérales. On a beau laver à l'eau, à l'alcool, à l'éther, la pulpe d'un pancréas, par exemple : les granulations organiques restent toujours chargées d'une certaine quantité de ferments solubles, et ce sont ces ferments solubles, et non les microzymas, qui agissent. Une expérience de A. Gautier me paraît concluante. Ce chimiste a lavé quotidiennement, au travers d'un diaphragme en terre de pipe, des granulations insolubles provenant d'une dissolution de pepsine, et a trouvé que la 20e eau de lavage avait encore une activité sensible. Mais les recherches d'Estor et de Béchamp ont mis en lumière un fait important : la diffusion des diastases dans tout l'appareil digestif. C'est, de la théorie des auteurs montpelliérains, le seul point que je veuille retenir, le seul en rapport avec le sujet que je traite.

TECHNIQUE.

J'ai pensé qu'il était utile de faire précéder l'exposé de ces recherches d'un chapitre dans lequel je décrirai, aussi sommairement que possible, la technique et les procédés de culture qui m'ont servi. Un microbe est caractérisé, en effet, non seulement par sa forme, ses dimensions, la façon dont il se comporte vis-à-vis des liquides colorants, mais surtout par l'aspect de ses cultures sur les milieux solides et dans les milieux liquides. C'est ce qui permet de différencier un microbe d'un autre microbe morphologiquement identique. Or l'aspect des cultures se modifie quand varie, même légèrement, la composition du milieu dans lequel on le cultive. Il est donc important d'indiquer d'abord la composition qualitative et quantitative des milieux employés.

J'ai isolé et cultivé les microbes de l'estomac dans des milieux liquides et sur des milieux solides.

Les milieux nutritifs solides que j'ai employés sont :

1° La gélatine peptonisée ;
2° L'agar-agar (ou gélose) peptonisé ;
3° Le sérum de sang de bœuf gelatinisé ;
4° Les pommes de terre bouillies.

Les milieux liquides sont :

1° Le bouillon de lapin neutralisé et peptonisé ;
2° Le même bouillon, mais acidifié par l'acide chlorhydrique à 1/1000 ;
3° La liqueur de Cohn.

Je ne dirai rien de la préparation de ces divers milieux. On

la trouve décrite tout au long dans les traités de bactériologie.

J'indiquerai seulement leur composition.

Gélatine.		*Agar-agar.*	
Gélatine.....	100 gr.	Agar-agar.....	20 gr.
Peptones sèches....	20 —	Peptones sèches....	20 —
Glycérine pure.....	80 —	Glycérine pure.....	80 —
Chlorure de sodium.	2 — 50	Chlorure de sodium.	2 — 50
Phosphate de potasse	1 — 50	Phosphate de potasse	1 — 50
Tartrate d'Az H^4....	1 — 50	Tartrate d'Az H^4....	1 — 50
Eau.....	1000 —	Eau.....	1000 —

Le tout exactement neutralisé par du carbonate de soude. Pour le bouillon, 1 kilogram. de viande doit donner, après une ébullition à feu doux de trois ou quatre heures, un litre de bouillon auquel on ajoute :

Peptones sèches.....	20 gr.
Glycérine pure.....	80 —
Chlorure de sodium.....	2 — 5 [1]
Phosphate de potasse.....	1 — 5
Tartrate d'Az H^4.....	1 — 5

On neutralise exactement par le carbonate de soude. Pour préparer du bouillon acidifié a 1/1000, j'ajoutais à ce liquide neutralisé 6^{cc},25 d'acide chlorhydrique du commerce.

Le sérum sanguin était préparé et stérilisé par le procédé de Koch : chauffage quotidien de quatre heures pendant huit jours à 60°. Avant la stérilisation, le sérum était additionné de 2 °/$_0$ de peptones, de 8 °/$_0$ de glycérine et de 0^{gr},25 °/$_0$ de chlorure de sodium.

On remarquera l'addition d'une certaine quantité de glycérine à tous ces milieux. Nocard a employé des milieux ainsi glycérinés pour la culture du bacille tuberculeux. La glycérine, en

[1] Toutes ces formules diffèrent peu des formules indiquées dans les techniques bactériologiques.

effet, outre qu'elle augmente le pouvoir nutritif, est une substance hygroscopique et par suite empêche, dans une certaine mesure, la dessiccation et le racornissement des milieux solides.

La liqueur de Cohn était préparée suivant la formule connue.

Pour les cultures sur pommes de terre, j'ai employé, dès que j'en ai eu connaissance, le procédé de Roux, qui consiste à placer la pomme de terre coupée et crue dans une large éprouvette qu'on ferme par une bourre de coton. Au fond de l'éprouvette, on place un tampon d'ouate pour absorber et fixer la vapeur d'eau qui se forme pendant la stérilisation. On stérilise ces éprouvettes ainsi préparées, en les maintenant pendant une heure à l'autoclave à 120°. C'est le procédé de Roux légèrement modifié, car Roux n'introduit pas de coton au fond des éprouvettes, mais se sert de larges tubes étranglés à la lampe à leur partie inférieure, de façon à ce que la vapeur d'eau se condense dans l'ampoule qui fait suite à l'étranglement.

Pour stériliser les milieux nutritifs, je me suis servi tantôt de l'autoclave Chamberland, tantôt du poêle à vapeur d'eau de Koch (stérilisation à 100° répétée plusieurs jours de suite). Inutile d'ajouter que tous ces milieux étaient éprouvés par un séjour d'une semaine à 37°. Quelques mots maintenant sur les appareils de culture. Au début, j'avais employé le procédé classique des cultures sur plaques de verre. Mais j'ai vite renoncé à son emploi, M. Lannegrace ayant imaginé un procédé qui m'a rendu les plus grands services, en simplifiant beaucoup les manipulations et en me mettant à l'abri de toute contamination extérieure. Le procédé des cultures sur plaque présente en effet deux inconvénients assez graves.

D'abord il est long : il faut flamber les plaques, les placer sur un point absolument horizontal, ne verser sur elles qu'une petite quantité de gélatine ou d'agar-agar à une température voisine du point de solidification. Tout cela constitue une série d'opérations longues et ennuyeuses quand on veut faire un

assez grand nombre de plaques. Mais ce n'est là que le moindre inconvénient. Une fois la gélatine ou la gélose solidifiées, il faut placer les plaques sur un châssis stérilisé sous une cloche bien lavée au sublimé : d'où un transport, un déplacement qui expose à des contaminations. Quand les colonies sont développées, il faut encore porter les plaques sur la platine du microscope pour les examiner. Cette exposition à l'air, parfois longue, présente des dangers sur lesquels je crois inutile d'insister. Quand on a ensemencé une seule espèce ou des espèces déjà connues, l'inconvénient est moindre, car alors les colonies hétérogènes sont facilement reconnaissables, soit à leur développement tardif, soit à leur petit nombre. Mais lorsqu'il s'agit d'isoler plusieurs bactéries inconnues, dont certaines se développent plus tard que d'autres, l'incertitude est grande sur la légitimité d'existence des colonies qui se sont développées.

Ces inconvénients n'existent plus dans le procédé mis en pratique par M. Lannegrace.

Les plaques sont, en effet, remplacées par des assiettes rondes en verre très transparent, à fond absolument plat de 15 à 16 centim. de diamètre. Les bords, légèrement inclinés en dehors, sont érodés de façon à permettre l'application exacte d'une plaque de verre dont la circonférence coïncide exactement avec les bords de l'assiette. Cette plaque présente à son centre un orifice circulaire de 1 centim. de diamètre fermé par une bourre de coton. On complète la fermeture de ce petit appareil au moyen d'une bandelette de flanelle faisant un assez grand nombre de fois le tour de l'assiette, et qu'on fixe par des épingles. Ces assiettes, ainsi disposées, sont placées dans le poêle à stériliser de Pasteur, où elles restent à 120° pendant quatre heures. Au sortir du stérilisateur, on entoure la bande de flanelle d'une bande de caoutchouc. On a ainsi une enceinte absolument stérilisée, et où l'air ne pénètre qu'après s'être dépouillé de ses germes à travers la bourre de coton qui ferme l'orifice du pla-

teau. Les avantages de ce petit appareil si simple sont trop évidents pour que j'insiste. Outre la stérilisation parfaite, il permet d'étendre rapidement en plaque une assez grande quantité de substance solidifiable, sans que l'opérateur soit astreint aux précautions minutieuses et longues que nécessite le procédé ordinaire, et qui ne le mettent pas toujours, loin de là, à l'abri des contaminations. Pour introduire la gélatine ou la gélose dans ces assiettes stérilisées, il suffit de puiser avec un ballon-pipette flambé une certaine quantité de ces substances maintenues liquides et ensemencées avec le ou les microbes que l'on veut étudier ; puis de soulever la bourre de coton de l'orifice, et, introduisant la pointe de la pipette, de répandre dans l'assiette une couche de liquide d'épaisseur voulue. Mais les cultures sur plaque ainsi modifiées ne conviennent qu'aux aérobies. Pour isoler et cultiver les anaérobies qui pouvaient se trouver dans l'estomac, j'ai employé, en les modifiant très légèrement, les procédés indiqués par Roux (dans les *Annales de l'Institut Pasteur*). Pour les cultures sur milieux solides, je me suis servi d'un matras conique à fond plat, mesurant environ 12 centim. de diamètre. Le col de ce matras présente un étranglement assez large pour laisser passer la tige de verre armée d'un fil de platine servant à l'ensemencement. Au niveau du fond du matras débouche un tube de verre étroit, deux fois coudé à angle droit, et dont la branche horizontale supérieure présente aussi un léger étranglement. On verse dans ce flacon une quantité de gélatine ou de gélose suffisante pour former une couche de 2 millim. environ ; on ferme le col du ballon et le tube latéral avec du coton et on stérilise l'appareil ainsi disposé, en le laissant une demi-heure dans l'autoclave à 120°. Immédiatement au sortir de l'autoclave, le matras étant légèrement incliné, on fait passer à travers le liquide formant ainsi une couche plus épaisse, un courant d'hydrogène sec et pur. Quand la température est assez basse pour permettre l'ensemencement, on soulève la bourre de

coton de la tubulure principale, on ensemence, et, le courant d'hydrogène continuant à passer, on ferme au chalumeau la tubulure principale et le tube latéral adducteur. Ce matras n'est qu'une modification très légère du tube imaginé par Roux, et dont le principe est le même. On peut aussi utiliser, pour ces cultures sur milieux solides, un procédé imaginé par Esmarch, à condition toutefois que les microbes à cultiver ne liquéfient pas la gélatine. L'appareil est un simple tube à essai large et profond, dans lequel on verse une certaine quantité de gélatine. Près de son orifice se trouve un léger étranglement. On ferme cette éprouvette au moyen d'un bouchon de caoutchouc, traversé par un tube de verre court, qu'un tube de caoutchouc relie à un second tube de verre terminé en entonnoir.

Les extrémités en regard des tubes de verre sont distantes de 3 centim. environ dans le tube de caoutchouc. On place une bourre de coton dans l'entonnoir, on stérilise à l'autoclave pendant vingt minutes, et, pendant que la gélatine est en ébullition, on place deux pinces de Péan sur le tube de caoutchouc. En opérant assez rapidement, on est sûr d'éviter l'entrée de l'air. Quand la gélatine est suffisamment refroidie, on verse dans le petit entonnoir 1 ou 2^{cc} d'eau préalablement stérilisée et dans laquelle on a ensuite dilué les microbes que l'on veut cultiver. On ouvre alors la pince supérieure et on laisse couler le liquide jusqu'à la seconde pince. On ferme alors la première et on ouvre la seconde. Quelques gouttes de liquide tombent dans la gélatine. On ferme la seconde pince et on scelle le tube à la lampe au niveau de l'étranglement. Ensuite, quand la gélatine est sur le point de se solidifier, on fait rouler le tube tenu horizontal sous un courant d'eau froide. La gélatine se solidifie en se collant aux parois du tube, sur lesquelles elle forme une couche mince et transparente. Ce petit appareil peut aussi naturellement être employé pour la culture des aérobies, avec un dispositif beaucoup plus simple. Il peut servir aussi à la culture par piqûre (*Stic-*

kulture) des anaérobies. Dans ce cas, une fois le vide établi et la substance nutritive solidifiée, on fait arriver de l'acide carbonique qui remplit ce vide. On débouche alors le tube, on pique et on ferme à la lampe. Je n'ai pas besoin d'ajouter qu'une éprouvette semblable, mais plus grande, peut servir pour la culture des anaérobies sur les pommes de terre. Il est un autre procédé moins rigoureux, mais que l'on peut employer dans certains cas, par exemple lorsqu'on veut étudier l'influence de l'oxygène sur les propriétés chromogènes de certaines bactéries. Il consiste à verser sur de la gélatine ou de l'agar-agar en tubes une couche d'huile bouillie de 1 à 2 centim. d'épaisseur. Une fois que l'air contenu dans la gélatine a été chassé par une température élevée, la couche d'huile oppose un obstacle très suffisant à la pénétration de l'air dans le milieu.

Ces divers procédés de culture étant connus, il me reste maintenant à décrire les moyens que j'ai employés pour rechercher, isoler et cultiver les microbes de l'estomac.

Les micro-organismes que je vais étudier et que je vais décrire sont ceux que j'ai trouvés dans mon propre estomac à jeun. Je ne signalerai que les espèces que j'ai rencontrées au moins 7 fois sur 10. Ce n'est qu'à ce degré de fréquence que je me crois autorisé à les considérer comme normales. Il s'agissait évidemment avant tout de me procurer ces microbes, en évitant toute contamination extérieure. C'est avec le liquide de lavage de mon estomac que j'ai opéré ces recherches. J'ai fait ce lavage au moyen d'un tube de Faucher fixé à la tubulure latérale d'un flacon de 2 ou 3 litres de capacité et contenant environ 1 litre d'eau distillée. La tubulure supérieure du flacon était fermée par un tampon d'ouate. Je plaçais une pince à forcipressure sur le tube de Faucher, et je stérilisais l'appareil ainsi disposé en le maintenant, pendant une heure, dans l'autoclave à 120°. Au sortir de l'autoclave, je plongeais le tube de caoutchouc dans

une solution d'acide borique à 4 %, afin d'éviter le dépôt des germes de l'air.

Cela fait, je désinfectais ma bouche et mon pharynx par un lavage avec une solution de sublimé à 1/1000.

Retirant ensuite le tube de Faucher de son bain antiseptique, je le lavais à l'eau stérilisée et j'opérais enfin le lavage de mon estomac par le procédé connu. J'avais soin toutefois de faire passer le liquide un grand nombre de fois, de façon à entraîner tous les microbes qui pouvaient se trouver sur les parois de l'estomac. C'est avec ce liquide de lavage que je faisais mes premières cultures. Je stérilisais, comme je l'ai dit plus haut, une douzaine ou une quinzaine d'assiettes ; en même temps je stérilisais à l'autoclave deux ballons, l'un de gélatine et l'autre de gélose. Quand la température de ces milieux étaient suffisamment abaissée, j'agitais assez vivement le flacon contenant le produit du lavage, de façon à disséminer les germes aussi uniformément que possible ; je puisais un peu de liquide avec une pipette flambée et j'en laissais tomber quelques gouttes dans les ballons de gélatine et de gélose maintenus à une température de 38° à 40°. Avec un ballon-pipette, j'aspirais ensuite ces substances liquéfiées et ensemencées, et j'en répandais une couche de 1 millim. environ dans chaque assiette. Je faisais généralement dix assiettes de gélatine pour cinq de gélose. Pour isoler les anaérobies, j'ensemençais avec le liquide de lavage de la gélatine ou de l'agar-agar, mis à l'abri de l'oxygène suivant les procédés que j'ai décrits. Les assiettes de gélatine étaient placées dans une étuve à 22°, celles de gélose dans une étuve à 37°. Les colonies se développaient dans un délai variant de vingt-quatre à quarante-huit heures. C'est avec ces colonies que je faisais de nouvelles cultures sur plaque, jusqu'à ce que chaque assiette ne renfermât qu'une seule espèce de microbes. Une fois les bactéries obtenues à l'état de pureté, je les ensemençais sur les divers milieux nutritifs. J'examinais au microscope les

micro-organismes (pris à même les colonies développées sur la gélatine), d'abord sans les colorer, à la température de l'appartement et à une température de 30° à 35°, au moyen de la platine chauffante, pour étudier leurs mouvements. Puis, je les colorais avec une solution de violet de méthyle (BBBBB) préparée suivant la formule de Malassez (solut. alcool. saturée 1 centim. cube, eau distillée 40 gram.). Je les traitais aussi par la méthode de Gram, pour observer la persistance ou la disparition de leur coloration sous l'influence de l'alcool et de l'iode. Enfin, je faisais des préparations avec des cultures fraîches et des cultures vieilles, de façon à étudier les formes d'involution, le mode de sporulation. Les microbes que je reproduis dans la Planche qui se trouve à la fin de ce travail ont été dessinés à un grossissement de 1500 diamètres, avec l'objectif à immersion homogène de Zeiss, l'oculaire 18, le tube étant tiré jusqu'à la division de 160 millim. Pour les mensurations, j'ai employé le dessin à la chambre claire (division des dimensions ainsi obtenues par le pouvoir grossissant), j'ai fait aussi les mensurations à l'aide du micromètre oculaire, la valeur de ses divisions étant établie par comparaison avec celle des divisions du micromètre objectif. En prenant la moyenne arithmétique des résultats fournis par les deux procédés, j'arrivais à connaître les dimensions exactes des micro-organismes. Les colonies étaient examinées avec un microscope de Verick (grossissement minimum : oculaire n° 1, objectif n° 0). Pour certaines, j'ai employé l'objectif n° 2.

PREMIÈRE PARTIE

DES MICROBES DE L'ESTOMAC.

Le plan que je vais suivre pour l'étude des microbes de l'estomac est simple et ressort naturellement du sujet.

Dans la première partie, j'étudierai la morphologie des micro-organismes, l'aspect de leurs cultures sur les divers milieux, leur résistance au suc gastrigue et à la privation d'oxygène.

Dans la deuxième partie, je décrirai l'action et le mode d'action de chacun des micro-organismes sur les substances alimentaires.

Dans la troisième partie, l'action de tous les micro-organismes ensemencés à la fois sur chaque substance alimentaire.

Enfin un dernier chapitre renfermera les conclusions et les réflexions que nous auront inspirées les résultats des expériences.

ORIGINE DES MICROBES DE L'ESTOMAC.

Les microbes de l'estomac ont évidemment plusieurs origines. Ils peuvent provenir : 1° de l'air : chaque inspiration pouvant apporter des germes au niveau du pharynx, ceux-ci seront entraînés par la salive déglutie; 2° de la salive; 3° de l'eau; 4° des aliments. Ces diverses origines nous laissent prévoir que ces micro-organismes pourront varier dans une certaine mesure d'un individu à l'autre, avec les conditions de séjour, l'alimentation, etc. Ils varieront aussi naturellement avec l'état de santé de l'individu, le degré d'acidité du suc gastrique (On sait qu'il se produit parfois des fermentations exa-

gérées, dans des estomacs malades, lorsque l'acidité du suc gastrique disparaît ou diminue).

Mais parmi tous les microbes ainsi entraînés dans l'estomac, certains pourront être tués ou gênés dans leur développement par l'acidité du milieu pendant la digestion. D'autres peuvent souffrir de la proportion plus ou moins faible d'oxygène, toutes conditions qui font que l'estomac est un milieu particulier favorable à certaines espèces, défavorable à d'autres ; ce qui nous permet de croire qu'à côté de certaines espèces qui n'y ont qu'une existence éphémère, qui ne font que passer et disparaître, qu'à côté des microbes accidentels, si je puis ainsi dire, il y a des microbes *normaux* ayant élu domicile régulier dans l'estomac. Ce sont ces derniers que j'ai voulu étudier exclusivement, car ce sont eux surtout qui sont appelés à jouer un rôle dans la digestion. Pour cela, j'ai fait un grand nombre de lavages et de cultures. Aussi suis-je fondé à considérer les microbes que je signale comme existant normalement dans mon estomac. J'ai pu isoler seize espèces, dont sept connues :

1° La *Sarcina ventriculi* ;
2° Le *Bacillus pyocyaneus* ;
3° Le *Bacterium Lactis ærogenes* ;
4° Le *Bacillus subtilis* ;
5° Le *Vibrio rugula* ;
6° Le *Bacillus amylobacter* ;
7° Le *Bacillus megaterium* (?).

J'ai désigné les neuf autres espèces par les lettres A, B, C, D, E, F, G, H, I, je n'ai pu les rapporter d'une façon sûre à aucune espèce connue ou décrite. Ce sont : le *coccus* A, les bacilles B, C, D, E, F, etc.

En tout, deux microcoques : la sarcine et le coccus A, treize bacilles et un vibrion.

I. *Sarcina ventriculi.* — Découverte par Goodsir en 1842, bien étudiée et cultivée pour la première fois par Falkenheim, dans ces dernières années, la sarcine se trouve dans l'estomac de l'homme et de certains animaux. Chez l'homme, on la trouve surtout à l'état pathologique, dans les cas de dyspepsie chronique, de dilatation ; mais elle existe aussi fréquemment à l'état normal. Pour mon compte, je l'ai trouvée souvent dans le liquide de lavage de mon estomac.

La sarcine est constituée par huit cellules arrondies (coccus) qui s'accolent pour former un cube à angles émoussés. On trouve aussi, dans les préparations, des cellules isolées ou bien associées par deux, par quatre ou en courtes chaînettes. Ces microorganismes sont immobiles, tantôt incolores, tantôt, mais plus rarement, colorés en jaune sale. Examinés dans le contenu de l'estomac, à l'état pathologique, ils mesurent 2μ à $2\mu,5$ de diamètre. Leurs dimensions sont moins considérables dans les milieux de culture où on les ensemence. Ils n'atteignent alors que $1\mu,2$ à $1\mu,5$. Souvent les associations cubiques s'ajoutent les unes aux autres et forment des paquets volumineux. Les sarcines se colorent très bien par le violet de méthyle et les couleurs d'aniline. Elles se colorent bien aussi par la méthode de Gram. Leur multiplication se fait par scissiparité. La cellule primitive se divise suivant trois plans perpendiculaires l'un à l'autre, et constitue ainsi le groupement caractéristique auquel on a donné le nom de sarcine. Ce groupement ne se voit que rarement dans les cultures faites dans les divers milieux. On ne trouve dans ce cas que des microcoques, mesurant $1\mu,2$ ou même 1μ, isolés ou associés par deux souvent, par quatre ou en courtes chaînettes et en amas irréguliers. Mais le groupement cubique reparaît quand on ensemence les sarcines dans une infusion de foin neutralisée et additionnée de sucre de canne ou de glucose (2 °/₀).

Culture à 22°. — Ensemencées dans de la gélatine neutralisée

peptonisée et étendue en plaque, les sarcines forment, au bout de trente-six à quarante-huit heures, des colonies à la surface et dans la profondeur de la gélatine. Très petites d'abord, les colonies superficielles se présentent sous la forme de points blancs jaunâtres en relief. Au bout de quarante-huit heures, ces colonies atteignent le volume d'une tête d'épingle. Leur substance est concrète et adhère assez fortement au fil de platine quand on veut les diluer dans l'eau. Examinées à l'objectif 0 de Verick, elles présentent l'aspect de taches opaques finement granulées, arrondies, à bords nettement dessinés et parfois légèrement ondulés. Leur couleur est noirâtre, légèrement olivâtre sur les bords. Les colonies profondes apparaissent comme de petits disques noirâtres réfringents. Avec le temps, le volume des colonies superficielles augmente un peu. Elles peuvent arriver à 2 millim. de diamètre. Leur coloration devient plus franchement jaune, leur relief persiste. Au-dessous d'elles, la gélatine se ramollit très légèrement, mais n'arrive jamais à la liquéfaction.

Quand on ensemence les sarcines par piqûre dans de la gélatine peptonisée en tube, on voit, au bout de trente-six heures, un revêtement blanchâtre, légèrement jaunâtre, le long du trait de piqûre. La culture prend la forme dite *de clou*. La tige du clou est assez grêle, un peu plus renflée à la partie supérieure. La tête, de forme assez irrégulière, est petite et forme un léger relief. Vers le cinquième ou sixième jour, cette tête se trouve enfoncée dans une dépression à pic creusée à la surface de la gélatine. Au-dessous d'elle, la tige s'est un peu épaissie et a pris une couleur franchement jaunâtre.

Culture à 37°-38°. — Dans l'agar-agar étendu en plaque, on voit, au bout de quinze à vingt-quatre heures, de nombreuses colonies apparaître à la surface et dans la profondeur. Ce sont de petits points jaunâtres, arrondis, faisant un relief assez accentué à la surface de la gélose. Ces colonies grossissent un

peu avec le temps et atteignent jusqu'à 2^{mm}. Au microscope, elles présentent, à très peu de chose près, le même aspect que celles qui se développent sur la gélatine. Ces colonies profondes apparaissent comme des disques noirâtres, réfringents, arrondis et parfois ovalaires.

Sur de l'agar-agar en tubes, le long de la strie faite par le fil de platine, on voit se développer, au bout de vingt-quatre heures, une traînée blanchâtre granuleuse, légèrement en relief, à bords irrégulièrement ondulés et fermée par la confluence d'une foule de petits points arrondis légèrement saillants. Au bout de trente-six heures, la culture s'étend un peu et prend une coloration légèrement jaunâtre. Les jours suivants, cette teinte s'accentue. La culture s'épaissit et présente çà et là des îlots mamelonnés. Le développement en profondeur suivant le trait de piqûre est grêle, quoique nettement marqué.

Sur le sérum gélatinisé, les sarcines forment, au bout de vingt-quatre heures, des points blanc jaunâtre, arrondis, mamelonnés, qui finissent par se fusionner et constituer une couche de forme irrégulière à bords capricieusement ondulés. Dans la faible, quantité de liquide qui occupe le fond du tube, on voit un dépôt jaunâtre floconneux et visqueux. Le sérum n'est pas liquéfié.

Dans le bouillon de lapin neutralisé, le développement se fait lentement. Au bout de quarante-huit heures, il n'y a encore rien de changé en apparence. Vers le troisième jour, le bouillon louchit faiblement. En agitant le tube, on met en mouvement dans le liquide quelques rares flocons blanchâtres. Peu à peu, il se fait au fond du tube un dépôt jaunâtre assez lourd, adhérent aux parois du tube, et qui, quand on imprime quelques secousses au tube, se détache et monte dans le liquide en flocons lourds.

Dans le bouillon de lapin acidifié à 1/1000, bien que le développement soit encore plus lent et moins luxuriant, la culture revêt à peu près les mêmes caractères que dans le bouillon

neutre. Les milieux acides ne paraissent pas d'ailleurs exercer une influence très défavorable sur la sarcine, car on peut l'y cultiver pendant plusieurs générations.

Dans la liqueur de Cohn, il n'y a pas développement appréciable même au bout de trois ou quatre jours.

Sur la pomme de terre, au niveau des points de piqûre, on voit se développer lentement de petites masses globuleuses jaunâtres mesurant jusqu'à 5 et 6 millim. carrés de surface. Elles forment avec le temps des plaques en relief dont la surface présente des saillies mamelonnées et dont la couleur devient assez franchement jaune.

II. *Bacillus pyocyaneus.*— Le Bacillus pyocyaneus est un microbe chromogène qui donne au pus cette couleur bleu verdâtre qu'on observe parfois sur les pièces de pansement. J'ai trouvé constamment ce microbe dans le produit du lavage de mon estomac. Je l'ai trouvé aussi en abondance dans le contenu de l'estomac d'un homme tué en pleine digestion. Ce microorganisme a été l'objet d'assez nombreuses recherches expérimentales. Tout récemment encore, Charrin a fait à la Société de Biologie une série de communications sur l'action pathogénique du Bacillus pyocyaneus. Il y a peu de temps encore, on était loin de s'entendre sur ses caractères morphologiques. Désigné tout d'abord sous le nom de Vibrio pyocyaneus, à l'époque où ce mot de *vibrion* servait à désigner des espèces morphologiquement et biologiquement différentes, il a été ensuite regardé comme un microcoque (Charrin, 1884), puis comme un bactérium (Bacterium æruginosum), et enfin comme un bacille (Flügge, Cornil, Charrin). C'est en effet un bacille grêle et court, parfois très légèrement incurvé, et dont les extrémités sont arrondies ou légèrement effilées. Il mesure de $0\mu,8$ à $1\mu,2$ de long sur $0\mu,5$ de large. Ces bacilles sont le plus souvent isolés, quelquefois associés par deux et assez souvent réunis en amas irréguliers.

Leur mobilité est très grande, même à une basse température. Les mouvements sont les mêmes que ceux du Bacterium termo. Ces bacilles atteignent leurs dimensions les plus grandes dans le bouillon de lapin neutralisé et dans les millieux albumineux. Sur l'agar-agar, ils ne mesurent guère que $0\mu,7$ à 1μ. Dans les vieilles cultures sur ce milieu, j'ai pu observer les filaments incurvés, grêles et longs, signalés par Charrin. Dans les cultures vieilles, ils ne prennent la matière colorante qu'aux extrémités. Ils se multiplient par scission et se reproduisent par spores. Il existe une spore par bacille et elle se trouve en un point voisin d'une extrémité : c'est un corpuscule incolore, arrondi, très petit. La matière colorante que sécrètent ces microbes a été isolée et étudiée par Fordos : c'est la *pyocyanine*. Elle est soluble dans l'alcool et le chloroforme et cristallise sous forme de fines aiguilles bleues. Elle est colorée en jaune par les substances réductrices, en rouge par les acides, et précipite par le chlorure de platine et l'acide phosphomolybdique. Ces caractères la font ranger parmi les ptomaïnes. La matière colorante n'apparaît que dans les milieux où l'oxygène a libre accès.

Culture à 22°.— Le Bacillus pyocyaneus forme, au bout de vingt-quatre heures, des colonies à la surface et dans la profondeur de la gélatine. Les colonies au début, examinées au microscope (object. 2), présentent l'aspect de points jaunâtres arrondis, à zone marginale plus claire que le centre. En se développant, elles prennent une apparence légèrement grenue, mûriforme. Puis leurs bords se hérissent de filaments courts, fins et onduleux. En même temps elles commencent à liquéfier la gélatine. Cette gélatine liquéfiée forme autour des colonies une zone claire, entourée d'une bande sombre granuleuse, à limites mal accusées et de laquelle partent, en rayonnant, de nombreux filaments très serrés et finement ondulés. A un stade plus

avancé, les colonies présentent à l'œil nu l'aspect de petits godets grisâtres, arrondis ou ovalaires, qui au microscope paraissent constitués par une masse centrale granulo-floconneuse jaunâtre, de forme irrégulière, entourée d'une zone claire irrégulièrement granulée, et bordée elle-même par une bande foncée granuleuse, qui se prolonge à l'extérieur en filaments radiés serrés et légèrement onduleux.

Ces godets s'étendent rapidement ; plusieurs se fusionnent et forment de petits lacs de gélatine liquéfiée. Celle-ci, simplement glauque au début, prend une teinte verte de plus en plus accentuée ; si l'on veut suivre, à ce moment, le développement des colonies, il est nécessaire, pour peu qu'elles soient nombreuses, de maintenir la culture à une température inférieure à 20°, sinon la liquéfaction marche avec une grande rapidité et ne laisse pas le temps d'étudier le développement des colonies. A une température de 12 à 15°, on peut suivre toutes les formes intermédiaires entre les colonies profondes, les colonies au début et les colonies adultes. Celles-ci forment des godets de 5 à 8 millim. de diamètre. Au microscope, on voit au centre un noyau jaune brunâtre sans forme régulière, entouré d'une large zone de gélatine liquéfiée, parsemée de granulations de forme et de volume irréguliers. En dehors se trouve une zone étroite plus réfringente, plus foncée, à limites mal accusées et se prolongeant en filaments fins et serrés. Certaines colonies peuvent présenter un aspect légèrement différent : dans quelques-unes, on ne voit pas de noyau central ou bien la zone sombre périphérique est moins apparente. A une température même assez basse, les colonies s'étendent rapidement, et au bout de trente-six heures les 4/5 de la gélatine sont liquéfiés. A 20°, la liquéfaction est complète au bout de quarante-huit heures. La gélatine liquéfiée est trouble et présente une couleur verte très nette.

Ensemencé par piqûre dans la gélatine en tubes, le Bacillus pyocyaneus la liquéfie énergiquement en formant, au bout de

vingt-quatre heures, une dépression cupuliforme dont l'orifice occupe les 2/3 de la surface de la gélatine et dont la profondeur est de 5 millim. environ. Cette cupule est remplie de gélatine liquéfiée, légèrement louche et légèrement colorée en vert. Elle se prolonge par un infundibulum étroit, à l'embouchure duquel se trouve un amas floconneux blanchâtre. Sur le trajet de l'infundibulum, on voit deux ou trois petits amas cylindriques de granulations blanchâtres. Au bout de quarante-huit heures, la cupule s'est élargie et occupe toute la surface du cylindre de gélatine. En même temps sa profondeur a augmenté. La gélatine liquéfiée a pris une teinte émeraudée très nette. L'infundibulum dilaté est rempli de granulations blanchâtres très serrées.

Au troisième ou quatrième jour, la gélatine est liquéfiée dans toute la largeur du tube, sur une hauteur de 1 centim. et demi environ. La liquéfaction progresse encore les jours suivants, et vers le quinzième jour, la gélatine est à peu près complètement liquéfiée. A la surface de la gélatine restée solide on voit un sédiment blanc jaunâtre, visqueux, assez abondant.

Culture à 37°. — Sur les plaques d'agar-agar, on voit apparaître, au bout de vingt-quatre heures, des gouttelettes blanchâtres, luisantes, arrondies. Déjà, au bout de quarante-huit heures, l'agar-agar est coloré en vert d'une façon assez nette. Cette coloration s'accentue les jours suivants. Les colonies elles-mêmes présentent une teinte légèrement verdâtre. Certaines s'ombiliquent en vieillissant. Leur substance est molle et se laisse facilement dissocier par le fil de platine.

Sur l'agar-agar en tubes, ce microbe forme, au bout de douze heures, une traînée blanc grisâtre presque transparente, au-dessous de laquelle la gélose apparaît légèrement teintée en vert. Cette traînée s'élargit considérablement au bout de quarante-huit heures, elle s'épaissit et forme une couche humide, blan-

châtre, en relief, à bords irrégulièrement ondulés. En même temps, la couleur verte s'infiltre dans tout le substratum nutritif. La couche blanche superficielle se fonce un peu les jours suivants, et sa face profonde finit par prendre une teinte rubigineuse qui se diffuse dans l'agar-agar et masque un peu la couleur verte. C'est probablement cette teinte de rouille que prend à la longue ce milieu de culture, qui a valu au microbe le nom de *Bacterium æruginosum*.

Sur le sérum, le Bacillus pyocyaneus forme une plaque blanc jaunâtre légèrement en relief, lisse, à bords légèrement et irrégulièrement ondulés. Le sérum présente une très légère infiltration verte. La culture s'opacifie un peu avec le temps et le sérum se liquéfie peu à peu. Le liquide est jaune rougeâtre et renferme un précipité floconneux abondant.

Le bouillon de lapin neutralisé louchit au bout de vingt-quatre heures. En agitant le tube, on met en mouvement des nébulosités jaunâtres. A la surface flotte une pellicule lisse blanchâtre, présentant sur les bords une coloration vert bleuâtre, parfois très nette. Au bout de quarante-huit heures, le louche augmente. Dans le liquide, qui a déjà pris une coloration verte assez nette, flottent des grumeaux floconneux. Au fond du tube se fait un dépôt blanchâtre assez abondant. La couleur verte s'accentue de plus en plus et devient très apparente avec le temps.

Dans le bouillon acidifié, le développement est aussi luxuriant et présente les mêmes caractères ; seulement, au lieu de se colorer en vert, le liquide nutritif prend une teinte rougeâtre, due à l'action de l'acide sur la pyocyanine.

Dans la liqueur de Cohn, ce microbe ne donne lieu à aucun changement appréciable.

Sur les pommes de terre, au bout de vingt-quatre heures, on voit une couche muqueuse jaune brunâtre, légèrement en relief. La partie de la pomme de terre qui se trouve au-dessous de cette couche, exposée pendant quelques minutes à des vapeurs

d'ammoniaque ou à l'air pendant une ou deux heures, se colore en vert.

III. *Bacterium lactis ærogenes.* — J'ai trouvé avec la même fréquence dans mon estomac un microbe qui coagule assez rapidement le lait, en transformant le lactose en acide lactique. Ce microbe ressemble, par ses caractères morphologiques et biologiques, à un micro-organisme trouvé par Escherich dans les selles des nourrissons et qu'il a appelé Bacterium lactis ærogenes. Il ne faut pas le confondre avec le ferment lactique découvert par Pasteur, bien qu'au point de vue morphologique il en diffère peu. Les dimensions sont à peu près les mêmes, mais il ne forme que très rarement des chapelets, à l'encontre du ferment lactique que Hueppe a appelé «Bacillus acidi lactici ». C'est un bâtonnet court, à extrémités arrondies, plus souvent isolé qu'associé par deux ou en chaînette, quelquefois étranglé en bissac. Il est immobile et mesure $1\mu,5$ à 2μ de long, sur $0\mu,5$ à $0\mu,7$ de large. Le milieu nutritif qui lui convient le mieux est le petit lait sucré. Dans les vieilles cultures, il se déforme; ses extrémités ne sont plus aussi régulièrement arrondies et il n'absorbe qu'inégalement les matières colorantes. Dans les solutions sucrées, il forme des spores terminales arrondies.

Culture à 22°. — Sur la gélatine nutritive ordinaire, ce micro-organisme forme, au bout de vingt-quatre heures, des colonies à la surface et dans la profondeur. Les colonies profondes apparaissent comme de petits points blanchâtres arrondis; celles de la surface, comme des gouttelettes blanches, en relief, de 1 à 2 millim. environ de diamètre. Au microscope, ces colonies présentent l'aspect de disques brunâtres nettement limités, finement granulés, avec zone marginale étroite, plus claire que le centre.

Au bout de quarante-huit heures, ces colonies s'étendent un

peu et forment des petites pastilles arrondies, d'une teinte blanche, porcelanique. Dans la gélatine lactée (gélatine 10^{gr}, petit-lait 100^{gr}), les colonies sont beaucoup plus volumineuses Ce sont des plaques régulièrement ou irrégulièrement arrondies, blanches et luisantes. Au microscope, elles paraissent très finement granulées. Leur zone marginale est claire et est bordée par une ligne fine, nettement dessinée et légèrement ondulée.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine ordinaire, ce microbe forme un clou dont la tige blanche, assez épaisse, paraît formée par un chapelet de granulations serrées. La tête du clou est blanc grisâtre, légèrement saillante, irrégulièrement arrondie et mesure environ 1 millim. de diamètre. Les jours suivants, elle s'étend un peu à la surface de la gélatine, présentant un centre surélevé et des bords ondulés. La tige s'épaissit un peu et on peut voir, à son extrémité inférieure, quelques petites sphères blanches détachées. Dans le petit-lait gélatiné, le développement est beaucoup plus luxuriant : la tige du clou est blanche, épaisse, légèrement renflée en massue à la partie inférieure. La tête est formée par une grosse goutte blanche cireuse, fortement proéminente. Bientôt des bulles de gaz se forment dans le substratum nutritif et le fragmentent. Le microbe est un anaérobie facultatif. Il se produit un développement de gaz non seulement dans la gélatine, mais aussi dans la gélose et le bouillon. D'après Flügge, le Bacterium lactis ne donnerait lieu à une production gazeuse que dans les milieux sucrés. Le microbe que je décris forme des gaz dans des milieux où le sucre manque. Il est vrai qu'ils sont additionnés de glycérine.

Culture à 37°. — Sur l'agar-agar étendu en plaque, on voit se développer, au bout de douze heures, des points blanc jaunâtre en relief presque translucides, mesurant 1 à 2 millim. de diamètre. On voit aussi de nombreuses colonies dans la profondeur. Les colonies superficielles, au microscope, paraissent finement

granulées et présentent une teinte ocracée plus foncée au centre qu'à la périphérie. Dans la profondeur, les colonies présentent l'aspect de disques arrondis ou ovalaires, et offrent des contours plus nettement accusés et une coloration plus foncée que les colonies superficielles.

Ensemencés par strie sur l'agar-agar en tube, ces micro-organismes forment une traînée blanchâtre, luisante, en relief. Le centre est plus blanc et plus opaque que les bords. Cette traînée présente çà et là des saillies mamelonnées et ses bords sont irrégulièrement ondulés. Elle s'étend rapidement à la surface de la gélose, qu'elle recouvre d'une couche blanche en relief. En même temps, au niveau des points de piqûre et dans la masse de la gélose, apparaissent des bulles de gaz assez nombreuses.

Sur le sérum gélatinisé, apparaît, au bout de douze à quinze heures, une plaque grisâtre, humide, luisante, à bords ondulés. Cette plaque gagne rapidement en surface et finit par recouvrir le sérum d'une nappe luisante et molle. Parfois, mais assez rarement, quelques bulles de gaz se développent au-dessous. Le liquide du fond du tube est opaque, blanchâtre. Le sérum n'est pas liquéfié.

Le Bacterium lactis ærogenes se développe aussi très bien dans le bouillon de lapin neutralisé, qu'il trouble fortement au bout de douze heures. En agitant légèrement le tube, on détermine l'effervescence d'une foule de petites bulles gazeuses qui viennent mousser à la surface. Au bout de quarante-huit heures, le trouble persiste : on voit en suspension dans le liquide quelques grumeaux blanchâtres et au fond un abondant dépôt floconneux jaunâtre. Le dégagement gazeux diminue peu à peu et finit par cesser vers le quatrième ou cinquième jour. Le trouble est persistant.

Dans le bouillon acidifié, le développement est tout aussi luxuriant et revêt le même aspect que dans le bouillon neutre. Seulement le dégagement de gaz est beaucoup plus faible.

Dans la liqueur de Cohn, le Bacterium lactis se développe bien ; il y produit un trouble blanchâtre, mais pas de dégagement de gaz. Sur la pomme de terre, il forme, au bout de vingt-quatre heures, une plaque blanchâtre en relief, avec des saillies mamelonnées. Cette plaque s'étend très peu en surface les jours suivants, sa teinte blanchâtre vire au jaune sale avec le temps.

IV. *Bacillus subtilis.* — Le Bacillus subtilis ou bacille du foin est un des micro-organismes les plus répandus. Son histoire présente encore pourtant bien des obscurités. Il est probable que sous ce nom beaucoup d'auteurs ont décrit des microbes qui n'ont que des rapports de forme avec le bacille du foin. Babes prétend qu'il existe trois espèces de bacilles du foin : l'une résistant à 100°, la deuxième à 110°, la troisième 120°. Buchner en décrit cinq espèces. Le bacille que j'ai trouvé dans mon estomac est le même que celui que Vignal a isolé dans la bouche. Sa forme et l'aspect de ses cultures sont les mêmes.

Le Bacillus subtilis est un bâtonnet droit, quelquefois très légèrement incurvé, à extrémités arrondies. Ces bacilles sont isolés ou associés par 2 ou par 3. Souvent ils forment de longues chaînes et des pseudofilaments qui tantôt présentent un aspect homogène et tantôt se recourbent en zigzags, montrant ainsi nettement leur composition bacillaire. Ces bacilles sont très mobiles. Ils possèdent à chaque extrémité un flagellum très grêle, long et onduleux, qu'on peut colorer par l'hématoxyline suivant le procédé de Koch. Quand les bacilles sont associés, soit par 2, soit en plus grand nombre, les flagella n'existent qu'aux extrémités libres. Le mouvement consiste en glissements ou en ondulations. La longueur de ces micro-organismes est assez variable. Les plus longs mesurent 6μ, les plus courts $2\mu,5$ à 3μ. Leur largeur varie de 1μ à $1\mu,5$. Ils se multiplient par scission et se reproduisent par sporulation. Dans les membranes que le Bacillus subtilis forme à la surface des milieux de culture, on trouve de nombreux mi-

crobes sporulés. La spore est réfringente, ovalaire; son grand axe est parallèle à l'axe du bacille. Ces bacilles offrent une résistance très remarquable à la chaleur. Dans les milieux neutres, ils peuvent supporter pendant un quart d'heure une température de 100°.

Culture à 22°. — Sur des plaques de gélatine, le Bacillus subtilis forme, au bout de vingt-quatre heures, à la surface de la gélatine, de petites gouttelettes blanc jaunâtre en relief, régulièrement arrondies ou ovalaires, mesurant 1 à 2 millim. de diamètre. Au microscope, elles présentent une teinte brunâtre et un aspect finement granuleux. Au bout de trente-six heures, on voit autour de ces points en relief une plaque moins élevée, grisâtre, presque transparente, à bords dentelés. Au microscope, elle présente des crêtes et des sillons irrégulièrement distribués. Au bout de quarante-huit heures, cette plaque émet des prolongements de longueur irrégulière. Au centre, la gélatine est ramollie. Vers le troisième ou quatrième jour, on voit, autour de la petite éminence centrale déformée et affaissée, une zone claire de gélatine liquéfiée. La liquéfaction de la gélatine se fait donc très lentement.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine, il forme à la surface une plaque grisâtre mince, semi-transparente, mesurant environ $1^{mm}1/2$ de diamètre. Les bords de cette plaque sont finement ondulés. Dans la profondeur, on voit un traînée grisâtre très grêle. Vers le quatrième jour, la plaque superficielle, la tête de clou, s'épaissit. Les jours suivants, elle s'élargit et finit par recouvrir toute la surface du cylindre de gélatine. La gélatine à son niveau commence à se ramollir. La liquéfaction s'accentue peu à peu, et, vers le septième ou huitième jour, on voit une cupule large et très peu profonde, contenant de la gélatine liquide, et dont le fond est recouvert par un dépôt blanchâtre. Cette cupule devient un peu plus profonde les jours suivants, mais la tige ne s'épaissit pas.

Culture à 37°.— Sur l'agar-agar étendu en plaque, le Bacillus subtilis forme des plaques blanchâtres, minces, légèrement en relief, à pourtour caprieusement dentelé, semblables, comme le dit Vignal, à un globule blanc en expansion amiboïde. Au microscope, ces plaques paraissent finement granululées et présentent une teinte ocracée.

Sur l'agar-agar en tubes, le long de la strie d'ensemencement, apparaît, au bout de douze à quinze heures, une traînée blanc grisâtre légèrement en relief, à bords irrégulièrement dentelés. Cette traînée s'étend rapidement à la surface de la gélose et finit par la recouvrir d'une couche blanchâtre assez épaisse et ridée.

Sur le sérum, le Bacillus subtilis forme une plaque blanc jaunâtre, très légèrement saillante, à bords dentelés, qui gagne rapidement en surface et forme une couche grisâtre, mince, présentant des crètes et des sillons irrégulièrement distribués. Le sérum n'est pas liquéfié.

Quand on l'ensemence dans du bouillon de lapin neutralisé, celui-ci louchit très légèrement au bout de vingt-quatre heures. A sa surface flotte une membrane blanche, mince, délicate et légèrement tomenteuse, qui se relève un peu sur les parois du tube. Les jours suivants, cette membrane s'épaissit. Quand on agite le tube, elle tombe au fond ; mais au bout de douze heures, une nouvelle membrane se forme à la surface, et ainsi de suite jusqu'à ce que le milieu nutritif soit complètement épuisé.

Dans le bouillon acide, le Bacillus subtilis se développe assez bien. Le bouillon louchit légèrement au bout de vingt-quatre heures, mais ce louche disparaît. A la surface se forme une membrane tomenteuse blanchâtre assez épaisse.

Dans la liqueur de Cohn, le Bacillus subtilis produit un trouble léger et forme une pellicule grise très mince à la surface.

Sur les pommes de terre, on voit se former une plaque blanc jaunâtre très légèrement en relief et irrégulièrement mamelonnée. Au bout de quarante-huit heures, cette plaque recouvre

toute la surface de la pomme de terre. La couleur se fonce, et vers le troisième ou quatrième jour elle passe à la teinte lie de vin.

V. *Bacillus mycoïdes*. — Le Bacillus mycoïdes (bacille de la terre, *Erdebacillus*) se trouve d'une façon à peu près constante dans les couches superficielles de la terre de jardins, de rues ou de champs. Ses caractères morphologiques le rapprochent beaucoup du bacille du charbon, du Bacillus anthracis. Ses dimensions sont à peu près les mêmes. Il est mobile; son mouvement est un mouvement de glissement ou d'ondulation lente. Sa longueur varie de 4 et 5μ à 10 et 12μ, sa largeur est de 1μ à 1μ,2 en moyenne. Ces bâtonnets forment souvent des pseudo-filaments et de très longues chaînes composées d'articles souvent inégaux. Souvent aussi ils sont unis par 2 et par 3. Ils sont droits. Leurs extrémités sont arrondies quand ils sont isolés, coupées presque carrément quand ils sont en chaînettes. Quand la culture est un peu vieille, on voit dans ces chapelets de bacilles des segments qui se colorent mal ou même ne se colorent pas du tout. Quand le milieu nutritif s'appauvrit, il forme des spores. Ces spores sont des grains ovoïdes réfringents, mesurant à peu près 1μ dans leur grand axe, qui est parallèle à l'axe du bacille. On trouve généralement une seule spore par bacille et elle occupe son milieu. Ces micro-organismes forment des chaînes dans tous les milieux de culture. On voit les plus longs chapelets dans les cultures sur la gélatine peptonisée. Dans le bouillon acide, leurs dimensions diminuent.

Culture à 22°. — Ensemencé dans de la gélatine étendue en plaque, le Bacillus mycoïdes forme, dans la profondeur, de larges taches blanchâtres de forme irrégulière, à limites très vagues. C'est une sorte de trouble blanchâtre rappelant, à s'y méprendre, une végétation de mycélium. Au microscope, on voit que ces

taches sont constituées par un réseau inextricable de filaments gris jaunâtres, soyeux, rectilignes ou légèrement onduleux. Aux points d'entrecroisement, ces filaments forment des taches brunâtres nuageuses. Ces colonies mesurent en moyenne 1 à 2 centim. carrés de superficie. Au-dessus d'elles, la gélatine est ramollie. Bientôt les colonies émergent à la surface et la gélatine est liquéfiée. Les filaments perdent alors un peu de leur netteté. Ils se feutrent, pour former au-dessus de la gélatine liquide une membrane blanc jaunâtre.

Les colonies se fusionnent rapidement, et, au bout de quarante-huit heures environ, la plaque de gélatine est totalement liquéfiée. La gélatine liquéfiée exhale une odeur fade mais non putride.

Lorsqu'on ensemence par piqûre ce bacille dans de la gélatine en tubes, on voit se former au bout de vingt-quatre heures, à la surface de cette gélatine, une cupule étroite, de forme irrégulière, contenant de la gélatine liquéfiée et de l'air. Du fond de cette cupule part une tige grisâtre suivant le trait de piqûre. Cette tige est grêle. Elle émet de chaque côté, perpendiculairement à sa direction, des petits filaments grisâtres, soyeux, très serrés et de longueur à peu près égale. L'extrémité inférieure de la tige est constituée par un petit renflement blanchâtre qui forme comme une houppe de fins filaments. Au bout de quarante-huit heures, l'aspect de la culture n'a pas beaucoup varié. Les filaments se sont seulement un peu allongés et sont devenus plus apparents. En outre, la liquéfaction de la gélatine, à la partie supérieure de la culture, s'est accentuée ; le liquide est louche et grisâtre. Au troisième jour, la liquéfaction a sensiblement progressé ; le liquide est moins louche et plus fluide, les filaments perdent leur netteté. Enfin, au cinquième jour, la gélatine est liquéfiée dans toute la largeur du tube, sur toute la hauteur du trait de piqûre, et la culture a perdu son aspect caractéristique.

Culture à 37°.— Ensemencé sur l'agar-agar, le Bacillus mycoïdes forme, au bout de vingt-quatre heures, une traînée blanc grisâtre, très légèrement en relief, et des bords de laquelle partent, à la façon des barbes d'une plume, de petits tractus blanchâtres d'inégale longueur. Dans la profondeur de la gélose, les traits de piqûre sont hérissés de filaments analogues à ceux qui entourent le trait de piqûre dans la gélatine. Au bout de quarante-huit heures, ces filaments perdent de leur netteté. La culture a gagné en surface. Vers le troisième ou quatrième jour, quelques bulles de gaz apparaissent dans le substratum nutritif. En dehors de la culture primitive, on voit des plaques blanchâtres présentant le même aspect que la traînée primitive. Finalement, la surface de la gélose finit par être recouverte d'une nappe blanchâtre assez épaisse et ridée.

Sur le sérum on voit apparaître, au bout de vingt-quatre heures, une plaque blanchâtre légèrement en relief, à bords irrégulièrement dentelés, à surface granuleuse. Cette plaque s'étend les jours suivants, en formant des arborescences qui tapissent toute la surface du sérum. Au bout de dix jours, celui-ci n'est pas encore liquéfié.

Au bout de vingt-quatre heures, le bouillon neutre ensemencé avec ce bacille louchit fortement. On voit en suspension dans le liquide de gros flocons blanchâtres et des nuages grisâtres. Au bout de quarante-huit heures, une pellicule peu consistante se forme à la surface. Les grumeaux deviennent plus nombreux, un dépôt jaunâtre floconneux assez abondant se forme au fond du tube. Le bouillon exhale une odeur fade.

Le bouillon acide louchit un peu au bout de vingt-quatre heures; puis le trouble s'accentue et le développement devient semblable au développement dans le bouillon neutre.

Dans la liqueur de Cohn, le Bacillus mycoïdes se développe bien; il la trouble d'abord légèrement, puis forme un dépôt blanchâtre au fond du tube.

Sur la pomme de terre, le Bacillus mycoïdes forme, au bout de vingt-quatre heures, une couche muqueuse blanchâtre légèrement en relief. Le centre présente une coloration légèrement jaunâtre, les bords sont irrégulièrement découpés. Au bout de quarante-huit heures, l'aspect de la culture est tout à fait caractéristique : on voit partir des bords de fines arborescences grisâtres semblables à des filaments de mycélium. Vers le troisième ou quatrième jour, la surface de la pomme de terre est recouverte d'une nappe blanchâtre finement ridée sur les bords.

VI. *Coccus* A. — Le micro-organisme A est un coccus régulièrement sphérique, immobile, mesurant 1μ à 1μ,5 de diamètre. Il atteint son volume maximum quand on le cultive dans la gélatine peptonisée. Dans le bouillon neutre et acide, sur l'agar-agar, il ne dépasse pas 1μ,2. Ces microcoques sont isolés, le plus souvent associés par deux; quelquefois, mais rarement, ils forment de courts chapelets de trois ou quatre individus ou des petites grappes. Ils se colorent très bien par les couleurs d'aniline et ne se décolorent pas quand on les traite par la méthode de Gram. Alors même qu'on les prend dans de vieilles cultures, ils fixent encore énergiquement la matière colorante. Ce n'est que dans les cultures datant d'un mois au moins qu'ils présentent une irrégularité d'absorption vis-à-vis des colorants. Certains ne se colorent qu'au centre, la périphérie restant claire ; d'autres aux deux pôles. Beaucoup sont alors déformés, fragmentés et apparaissent dans les préparations comme un semis de granulations irrégulières, mal colorées. Ils se multiplient par division.

Culture à 22°. — Dans la gélatine peptonisée et étendue en plaques, ces microcoques forment des colonies à la surface et dans la profondeur. Ces dernières se présentent à l'œil nu sous l'aspect de petits points gris jaunâtres, qui au microscope apparaissent comme des disques arrondis noirâtres, à bords légère-

ment onduleux et nettement arrêtés. Les colonies superficielles, au début, sont formées par un petit dépôt de granulations blanchâtres, isolées bien que rapprochées les unes des autres, et situées au centre d'un large godet transparent. Plus développée, la colonie ressemble à une sorte de rosace irrégulièrement arrondie, avec un centre granuleux d'où partent, en rayonnant, de petits chapelets de granulations qui aboutissent à une bande plus foncée et granuleuse. De celle-ci émergent de nouveaux chapelets granuleux plus serrés, limités par une ligne onduleuse, périphérique, réfringente. Arrivées à leur complet développement, les colonies sont constituées par des godets peu profonds, opaques, blanchâtres, à bordure finement dentelée. Ces godets mesurent 1 centim. de diamètre au maximum. A l'intérieur, la gélatine est ramollie, pâteuse. La structure de ces colonies, examinées au microscope, est la suivante : au centre, un petit noyau arrondi, noirâtre ; tout autour, une zone assez large, grisâtre, pointillée, dans laquelle les granulations sont groupées en séries radiées et très serrées. Cette zone est entourée d'une bande granuleuse étroite plus foncée, en dehors de laquelle on voit une zone marginale grisâtre, pointillée, se terminant par des franges granuleuses, qu'entoure une zone claire transparente à bords ondulés. Ces colonies liquéfient lentement la gélatine à la température de 15° ; mais à l'étuve la liquéfaction marche plus vite, et au bout de trois ou quatre jours, la plaque de gélatine est entièrement liquéfiée. La gélatine liquéfiée, parfaitement fluide à une température de 22°, redevient pâteuse au-dessous. Le liquide est louche, gris jaunâtre. Je ne serais point étonné que ce microbe ne fût le coccus signalé par Escherich dans les fèces des nourrissons, coccus qui forme rarement des chaînettes et qui liquéfie la gélatine.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine, le coccus A forme à la surface une tache blanchâtre opaque, légèrement excavée, à bords finement dentelés. Cette tache mesure environ

8 millim. de diamètre. Au-dessous, la gélatine liquéfiée remplit un petit entonnoir régulièrement conique, transparent, au sommet duquel se trouve un petit amas blanchâtre. A cet entonnoir fait suite une tige grisâtre, grêle, presque transparente, à ligne axiale opaque. Au bout de trois jours, cet entonnoir a fait place à une cupule large et profonde remplie d'un liquide blanc grisâtre et trouble. A la surface, on aperçoit toujours la tache blanche à bords dentelés, mais elle s'est élargie et occupe maintenant toute la surface du cylindre de gélatine. Sur les parois de la cupule, on voit un pointillé blanchâtre clair semé. A la cupule fait suite un infundibulum de 1^{mm} 1/2 de largeur environ, à l'extrémité duquel se trouve un amas grumeleux blanchâtre.

Culture à 37°. — Sur l'agar-agar en plaque, apparaissent, au bout de vingt-quatre heures, de petites plaques blanc grisâtre, légèrement en relief et à bords finement dentelés. Au microscope, elles présentent une teinte jaunâtre très foncée au centre, plus claire sur les bords. Ceux-ci sont très nettement dessinés, irrégulièrement dentelés, et s'enlèvent en relief sur la gélose.

Sur l'agar-agar en tubes, le coccus A forme une couche blanc grisâtre terne, légèrement saillante seulement dans sa partie supérieure. Les bords sont finement et capricieusement dentelés, plus opaques et plus en relief que le reste de la culture. Au bout de quarante-huit heures, cette couche s'est largement développée en surface et recouvre les trois quarts de la surface de la gélose. Elle est molle, quoique un peu sèche, et se laisse facilement dissocier par l'aiguille de platine ; elle ne se reforme pas aux points où on l'a grattée.

Sur le sérum, on voit se développer une plaque luisante formée par la confluence d'une foule de petits points blanchâtres, luisants, légèrement mamelonnés. Le liquide du fond du tube est louche et contient un dépôt floconneux blanchâtre. Un commen-

cement de liquéfaction se produit à la quarante-huitième heure, et, au cinquième ou sixième jour à l'étuve à 37°, le sérum est à moitié liquéfié.

Au bout de vingt-quatre heures, le bouillon neutre louchit très légèrement ; le développement devient plus apparent vers le troisième ou quatrième jour. On voit en suspension dans le liquide louche quelques grumeaux blanchâtres, et près de la surface, des petits grumeaux blancs, des débris de pellicules qui s'accolent aux parois du tube et forment une petite collerette blanche au liquide. Au fond du tube se trouve un dépôt blanc jaunâtre.

Dans le bouillon acide, le développement se fait aussi très bien et d'une façon analogue.

Dans la liqueur de Cohn, le coccus A se développe médiocrement.

Sur la pomme de terre, il forme une plaque blanche granuleuse, légèrement en relief, de forme irrégulière, à bords capricieusement ondulés. Cette plaque occupe le tiers environ de la surface de la pomme de terre. A une de ses extrémités, on voit un prolongement, une traînée blanche présentant de petits mamelons arrondis les uns à la suite des autres. A ce niveau, la culture est plus épaisse et d'une blancheur plus éclatante. Cette plaque s'élargit un peu avec le temps, mais sans changer d'aspect.

VII. *Bacille* B. — Ce bacille est grêle et très court. Les plus courts, à un grossissement de 700 diamètres, ressemblent à des microcoques ovalaires; ce n'est qu'à un fort grossissement que la forme bacillaire apparaît nettement. Ces bacilles sont le plus souvent isolés, quelquefois unis deux à deux ou en amas irréguliers. Leur longueur varie de $0\mu,6$ à $1\mu,2$. On trouve quelques bacilles, mais rares, qui atteignent jusqu'à 3 et 4μ. Leur largeur est de $0\mu,5$. Ils atteignent leur taille maxima dans le bouillon de lapin neutralisé, leurs dimensions les plus faibles dans l'agar-agar. Quand ces micro-organismes sont vieux, ils n'absorbent la matière

colorante qu'à leurs extrémités. Ils forment une spore arrondie et voisine d'une des extrémités.

Culture à 22°.—Ensemencés dans de la gélatine en plaques, ces bacilles forment, au bout de trente-six heures, de toutes petites plaques brillantes, grisâtres, irrégulièrement arrondies, et faisant nettement saillie à la surface de la gélatine. On trouve aussi un assez grand nombre de colonies profondes présentant au microscope l'aspect de petites taches arrondies brunâtres, fortement réfringentes. Au microscope, les colonies superficielles apparaissent comme des disques jaune clair, limités par une bordure noire légèrement ondulée et très réfringente. Près de leur centre, se trouve un petit noyau arrondi, d'une teinte jaunâtre plus foncée, à bords nettement dessinés. Au troisième jour, l'aspect des colonies a changé ; les bords ne sont plus aussi nettement accusés. La zone marginale s'est un peu étalée en dehors et s'abaisse en talus en formant de véritables marches d'escalier marquées par des linéaments onduleux foncés. En même temps, la colonie prend un aspect velouté et le noyau s'efface un peu. Les jours suivants, les colonies continuent à s'étendre un peu. Au cinquième jour, elles atteignent 2 à 3 millim. de diamètre Au microscope, on aperçoit toujours le noyau primitif : il est entouré d'une zone jaunâtre claire. La zone périphérique présente une teinte grisâtre et des lignes onduleuses sombres. En faisant varier l'incidence des rayons lumineux, on voit que la colonie présente des crêtes et des sillons irréguliers. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine, le bacille B forme un clou à tête petite, blanchâtre, en relief et à tige blanche trapue. Au troisième jour, la tête s'étend un peu et forme à la surface de la gélatine une plaque de 1 millim. de diamètre environ, grisâtre, à bords dentelés. Le centre en est surélevé et plus opaque que la périphérie. La tige est blanche, opaque, assez

épaisse et paraît formée par un chapelet de grains blancs serrés. La partie inférieure est légèrement renflée en massue. Quelquefois, dans le cours du développement, on voit apparaître quelques bulles gazeuses dans la gélatine. La culture, au bout de cinq ou six jours, ne se modifie plus et jamais la gélatine ne subit de liquéfaction.

Culture à 37°. — Sur l'agar-agar en plaque, on voit se développer, au bout de vingt-quatre heures, des points grisâtres, luisants, arrondis et en relief. Les plus volumineux ont environ 1 millim. de diamètre. Ces colonies présentent au microscope une teinte jaune clair et un aspect velouté. En faisant varier la mise au point, le centre et la périphérie paraissent alternativement clairs et obscurs. On trouve aussi dans la profondeur de nombreuses colonies qui apparaissent, à l'œil nu, comme un fin pointillé blanchâtre. Au microscope, ces colonies sont rondes ou ovalaires et présentent une teinte ocracée claire.

Sur l'agar-agar en tubes, B forme au bout de vingt-quatre heures une traînée blanchâtre, en relief, luisante et légèrement translucide. Les bords sont irrégulièrement ondulés et s'abaissent en talus jusqu'au niveau de la gélose. Au bout de quarante-huit heures, cette traînée s'élargit et forme une plaque de 8 millim. à 1 centim. de large à sa partie inférieure. On voit parfois se développer quelques bulles de gaz dans l'agar-agar.

Sur le sérum, ce bacille forme une couche blanc jaunâtre, légèrement saillante et faiblement transparente. Ses bords sont irrégulièrement découpés. Le liquide qui occupe le fond du tube est blanc laiteux. Le sérum n'est pas liquéfié. La culture exhale une odeur fade.

Ensemencé dans le bouillon de lapin neutralisé, le bacille B le trouble fortement au bout de vingt-quatre heures. Le liquide exhale une odeur fétide, il tient en suspension des nébulosités grisâtres. Au bout de quarante-huit heures, l'aspect du bouillon

n'a pas changé, seulement un dépôt blanchâtre assez volumineux se fait au fond du tube. Il ne se forme ni membrane ni pellicule superficielle.

Dans le bouillon acidifié à 1/1000, le développement est aussi luxuriant : au bout de quarante-huit heures, on aperçoit quelques grumeaux floconneux blanchâtres, et, vers le quatrième jour, une pellicule grisâtre, friable, se forme à la surface. Les jours qui suivent, le développement reste stationnaire et un dépôt blanc jaunâtre se fait au fond du tube.

Dans la liqueur de Cohn, le bacille B se développe assez bien et y produit un louche persistant.

Sur la pomme de terre, B forme au bout de vingt-quatre heures une couche terne, jaune sale, ne présentant pas de saillies. Cette couche a à peu près les dimensions d'une pièce de 1 franc. Elle est molle, se laisse facilement dissocier par le fil de platine. Au-dessous d'elle, la pomme de terre a une teinte jaune luisante plus foncée. Les jours suivants, la culture gagne un peu en surface.

VIII. *Bacille* C. — Ces bacilles sont immobiles, droits (quelques-uns sont légèrement incurvés), à extrémités arrondies. Ils sont isolés, associés par deux le plus souvent, soit en ligne droite, soit en formant un angle plus ou moins ouvert ; quelquefois aussi, surtout dans les cultures un peu vieilles, ils forment d'assez longues chaînettes. Leur largeur est de $1\mu,2$ en moyenne ; leur longueur varie depuis $2\mu,5$ jusqu'à 7μ.

On trouve aussi, quoique assez rarement, des filaments parfois très longs (12 à 15μ). Dans les vieilles cultures, les bacilles n'absorbent la matière colorante qu'aux deux extrémités, et, quand ils sont en chaînettes, présentent alors un aspect annelé caractéristique. Quand le milieu nutritif s'appauvrit, ils forment des spores médianes (une par bacille) ovalaires, à limites mal accusées. Les filaments présentent plusieurs de ces spores. En même temps, les bacilles se déforment et présentent des contours

variqueux). Ils atteignent leurs dimensions les plus grandes sur la gélatine peptonisée, leurs dimensions les plus faibles dans le bouillon acidifié à 1/1000.

Culture à 22°.— Ce bacille forme sur la gélatine, au bout de vingt-quatre heures, des points grisâtres, arrondis, en relief, luisants, presque translucides. Ils mesurent depuis 1/2^{mm} jusqu'à 1^{mm} de diamètre. Examinés avec l'objectif 2 de Verick, ils apparaissent comme des disques sombres, grisâtres, finement granuleux. La partie centrale de la colonie est plus sombre, plus opaque que la périphérie et forme une tache nuageuse à limites mal accusées. La zone périphérique est claire, finement granulée et assez nettement limitée. Dans la profondeur de la gélatine, on voit de nombreux petits points blanc grisâtre, qui au microscope ont la même structure que les colonies superficielles. Au bout de quarante-huit heures, l'aspect de celle-ci s'est modifié d'une façon notable: ce sont de petites taches blanches, opaques, arrondies, dont les plus grandes mesurent environ 2 millim. de diamètre: elles sont situées au centre d'une légère dépression de la gélatine. Au microscope, elles présentent l'aspect de disques foncés, opaques, à bords rugueux (les colonies profondes plus petites ne présentent pas ces rugosités). A cette période, la liquéfaction de la gélatine, peu marquée jusque-là, s'accentue. Au quatrième jour, les colonies ne présentent plus une teinte noirâtre uniforme, mais on y voit des zones foncées à côté de zones plus claires; elles paraissent formées par un feutrage serré de petits poils très fins. A l'œil nu, ce sont des taches blanches dont certaines mesurent 1 centim. de diamètre. Vers le cinquième ou sixième jour, à la température de 22°, la gélatine est à peu près totalement liquéfié. Le liquide est trouble, grisâtre, avec de nombreux petits grumeaux blancs.

Ensemencé dans la gélatine en tubes, on voit au bout de vingt-quatre heures un enduit blanchâtre, le long du trait de piqûre.

A la partie supérieure de celui-ci, se trouve une petite bulle d'air, au-dessous de laquelle on voit un renflement fusiforme blanchâtre. Au bout de quarante-huit heures, la culture a pris un aspect beaucoup plus caractéristique. Au-dessous de la bulle d'air se trouve un entonnoir étroit et profond rempli de gélatine liquéfiée, et au fond de cet entonnoir un petit amas blanchâtre. Dans le liquide, presque transparent, se trouvent en suspension quelques grumeaux grisâtres très petits. L'extrémité inférieure de la tige de l'entonnoir est remplie par un dépôt blanchâtre se prolongeant plus bas par des granulations blanches isolées, très petites. Au troisième jour, l'aspect de la culture ne s'est pas modifié sensiblement, seulement l'entonnoir s'est élargi et la quantité de gélatine liquéfiée a augmenté. Enfin, vers le sixième jour on voit une dépression conique, large et profonde, remplie d'un liquide trouble grisâtre et au fond duquel se trouve un petit amas blanchâtre.

Culture à 37°.— Sur l'agar-agar, le long de la strie d'ensemencement, au bout de vingt-quatre heures, on voit se développer une traînée blanchâtre, tirant légèrement sur le jaune. Cette traînée est luisante, très en relief, et ses bords sont irrégulièrement ondulés. Le développement en profondeur suivant le trait de piqûre est très marqué. Au bout de quarante-huit heures, la culture s'est étalée et forme une bande (large de 5 à 6 millim. dans la partie la plus étroite) blanc jaunâtre, luisante, absolument plane et un peu moins en relief qu'au début. La substance est molle, un peu visqueuse. Elle se ramollit davantage avec le temps et devient crémeuse.

Sur le sérum, le bacille C forme une plaque jaunâtre, luisante, humide et en relief. Le sérum ne présente pas encore trace de liquéfaction. Au bout de quarante-huit heures, cette plaque s'étale un peu. Sa coloration se confond presque avec celle du milieu nutritif. Les jours suivants, son relief est moins appa-

rent et le sérum finit par être recouvert d'une nappe jaunâtre, luisante, semi-fluide ; le sérum se liquéfie lentement.

Ensemencé dans du bouillon de lapin neutralisé, ce bacille le louchit fortement au bout de vingt-quatre heures ; on ne voit encore ni grumeaux, ni dépôt, ni membrane superficielle. Au troisième ou quatrième jour, le bouillon est trouble et à la surface apparaît un rudiment de membrane. Du cinquième au sixième jour, on voit à la surface du bouillon et accolée aux parois du tube une couche blanche granuleuse assez épaisse. En même temps, un dépôt floconneux blanc jaunâtre se forme au fond du tube et le bouillon se clarifie un peu.

Dans le bouillon acide, le développement, quoique très net, n'est pas aussi luxuriant que dans le bouillon neutre. Au bout de vingt-quatre heures, le bouillon est louche ; à la quarante-huitième heure, même aspect ; du troisième au quatrième jour, le bouillon se trouble, de nombreux grumeaux se forment et à sa surface apparaît une légère pellicule blanche.

Ensemencé dans la liqueur de Cohn, le bacille C s'y développe assez bien et la louchit.

Sur la pomme de terre, au bout de vingt-quatre heures, le long de la strie d'inoculation on voit apparaître une traînée blanche, luisante, en relief, à pourtour irrégulièrement ondulé. Au bout de quarante-huit heures, cette traînée s'élargit et s'épaissit. Sa surface présente quelques éminences mamelonnées. Aux extrémités on voit deux grosses gouttelettes crémeuses ; vers le quatrième jour, au milieu de la traînée blanche se détache en relief un cordon jaunâtre ; ce cordon disparaît vers le sixième ou septième jour, et on ne voit plus à la surface de la pomme de terre qu'une couche blanc jaunâtre, épaisse, présentant d'assez nombreuses saillies mamelonnées.

IX. *Bacille* D. — Le micro-organisme D est un bacille droit dont les extrémités sont arrondies. Ces bacilles sont isolés, ou,

le plus souvent, associés par deux, soit en ligne droite, soit sous un angle variable. Quelquefois, mais rarement, on observe de courtes chaînes de trois ou quatre articles au plus. Ces bacilles sont doués d'un mouvement très lent. Cultivés sur la gélatine peptone, ils mesurent depuis $2\mu,5$ et 3μ jusqu'à 8μ de long sur $0\mu,9$ à 1μ de large. Ils sont généralement un peu renflés aux extrémités. Sur l'agar-agar, leur diamètre transversal augmente très légèrement et les extrémités sont moins arrondies. Dans le bouillon de lapin neutre, ils mesurent de 4 à 10μ de long sur 1μ de large. Quand ils sont vieux, ces bâtonnets perdent la rectitude de leurs contours, deviennent légèrement variqueux et n'absorbent la matière colorante que par plaques. Ils forment une spore légèrement ovalaire, assez réfringente, située généralement au milieu du bacille et dans son axe.

Culture à 22°. — Ensemencé dans la gélatine étendue en plaque, D forme des colonies dans la profondeur et la surface de la gélatine. Les colonies profondes mesurent 1 à 2 millim. de diamètre. Ce sont de petites taches grises, arrondies, d'une teinte uniforme, qui au microscope apparaissent comme des disques gris jaunâtre, hérissés de cils fins et serrés. A la périphérie, ces cils affectent une disposition radiée et forment une collerette très élégante à la colonie. Quand ces colonies restent dans la profondeur et s'y développent, elles s'élargissent et présentent au microscope un noyau granuleux assez étendu et à limites mal accusées, autour duquel se trouve une zone plus claire, entourée d'une bordure assez large, sombre, granuleuse d'où émergent de fins filaments courts et serrés. Le plus souvent, les colonies arrivent à la surface de la gélatine, et alors leur aspect se modifie ; elles perdent d'abord leur collerette ciliée. A peine si l'on voit sur les bords quelques vestiges de poils clairsemés. Elles présentent alors un centre foncé granuleux et une zone périphérique sombre. Arrivées à leur complet développement, les colo-

nies superficielles forment des godets arrondis remplis de gélatine liquéfiée. Ces godets mesurent en moyenne 1 centim. de diamètre. A l'œil nu, on voit, à leur intérieur, des îlots blanchâtres, irrégulièrement distribués. Examinées au microscope, ces colonies paraissent remplies de granulations très fines et très serrées, surtout à la périphérie. Ces granulations se tassent par places, de façon à former des taches plus foncées, de véritables *pommelures*, qui donnent à la colonie un aspect tout à fait caractéristique. Les bords sont légèrement rugueux. Ils offrent parfois des vestiges des cils, qui hérissent les colonies profondes. Ces godets s'étendent rapidement, se fusionnent, et finissent par former de grands lacs de gélatine liquéfiée. Le liquide est trouble, grisâtre, parsemé de grumeaux et de détritus de membranes. Au quatrième jour, la plaque de gélatine est complètement liquéfiée.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine, le bacille D liquéfie celle-ci, en formant d'abord, au bout de vingt-quatre heures, une petite cupule dont l'orifice mesure environ 8 millim. de diamètre. Du fond de cette cupule, part un infundibulum étroit et profond, qui suit le trait de piqûre. La gélatine liquéfiée présente une teinte grisâtre homogène, sauf à l'entrée de l'infundibulum, où se trouve un petit amas blanchâtre. Au bout de quarante-huit heures, la cupule et l'infundibulum se sont élargis ; dans la gélatine liquide, on voit de petits flocons grisâtres, nombreux, de forme irrégulière. Au troisième jour, la gélatine liquéfiée remplit un boyau de 1 centim. et demi de profondeur sur 1/2 centim. de large et terminé en cul-de-sac.

Les grumeaux, primitivement en suspension dans le liquide, se sont accumulés dans le cul-de-sac et forment un dépôt floconneux blanc grisâtre assez volumineux. La liquéfaction progresse encore les jours suivants. Vers le septième ou huitième jour, tout le cylindre de gélatine est liquéfié jusqu'au bout du trait de piqûre. A la surface de la gélatine restée solide se trouve un

dépôt floconneux blanchâtre. La gélatine liquéfiée, trouble dans les couches inférieures, est transparente à la partie supérieure. A sa surface se forme, avec le temps, une pellicule blanche très mince, délicate et friable.

Culture à 37°. — Sur l'agar-agar, on voit au bout de vingt-quatre heures, le long de la strie d'inoculation, une traînée grisâtre, luisante, légèrement en relief, à pourtour légèrement et irrégulièrement festonné. En examinant la culture par transparence, on voit que les bords sont moins opaques que les parties centrales. La culture gagne lentement en surface ; en même temps elle perd son aspect luisant : elle devient finement chagrinée. Sa couleur, de grisâtre qu'elle était, devient jaunâtre. Ses bords sont plus déchiquetés et son relief diminue. Avec le temps, l'agar-agar sous-jacent prend une teinte diffuse légèrement brunâtre.

Sur le sérum, le bacille D forme, au bout de vingt-quatre heures, une plaque de forme irrégulière, jaunâtre, légèrement saillante. Ses bords sont irrégulièrement ondulés. Au bout de deux ou trois jours, cette plaque s'étend et en même temps paraît s'enfoncer dans le sérum, qui est lentement liquéfié. Le sérum, rongé par les microbes, se fragmente et brunit assez fortement. Le liquide du fond du tube, trouble, opaque, contient quelques grumeaux.

Quand on ensemence le bacille D dans du bouillon neutre, celui-ci louchit fortement au bout de vingt-quatre heures. Des nébulosités grisâtres flottent dans le liquide, dont la couleur n'a pas d'ailleurs varié. Au bout de quarante-huit heures, quelques grumeaux apparaissent. Au troisième ou quatrième jour, on voit se former à la surface une mince pellicule grisâtre qui s'épaissit et finit par former une membrane blanche, dont les bords assez épais sont relevés et accolés contre les parois du tube. Cette membrane se brise facilement à la moindre agitation du tube.

Au fond du liquide se trouve un dépôt floconneux grisâtre. Le bouillon reste toujours louche.

Dans le bouillon acide, le micro-organisme se développe bien aussi, mais plus lentement. Le bouillon louchit au bout de trente-six heures, mais moins cependant que le bouillon neutre. Au bout de quarante-huit heures, le louche s'accentue et il se forme bientôt à la surface une pellicule blanche, et au fond du tube un dépôt floconneux abondant.

Le développement est très maigre dans la liqueur de Cohn.

Sur la pomme de terre, ce bacille forme, au bout de vingt-quatre à trente-six heures, une plaque de forme irrégulière, en relief, présentant un aspect velouté et une coloration lie de vin. Cette couleur est persistante.

X. *Bacille* E. — E est un bâtonnet très gros à extrémités arrondies, souvent légèrement incurvé. Il mesure en moyenne 2 à 6μ de long sur 2μ à 2μ,5 de large. Il est doué de mouvements lents : les mouvements n'apparaissent qu'à une température relativement élevée (30 à 35°). Ces bacilles sont isolés ou réunis en chaînettes de 4 ou 5 articles. Ils ont un aspect granuleux très net. Certains semblent divisés en plusieurs segments par des lignes transversales foncées. Parfois ces segments se séparent sous forme de tronçons cubiques granuleux, de longueur et de largeur un peu variables. On trouve aussi des bâtonnets de 6 à 8μ de long sur 2μ de large, qui sont incurvés et dont les extrémités sont effilées. Dans les vieilles cultures, on voit à l'intérieur des bâtonnets des granulations fortement colorées à côté de granulations incolores. Les microbes prennent alors des formes involutionnelles très bizarres et difficiles à décrire. Dans les segments qui les composent, on voit une spore volumineuse, très réfringente, ovalaire. C'est sur l'agar-agar que ces micro-organismes atteignent leur largeur maxima. Ce bacille est peut-être le Bacillus megaterium de de Bary. Ce qui ne me permet

pas de l'affirmer, c'est que je n'ai pas pu observer dans le bacille E, d'une façon aussi nette que le représente de Bary, les lignes transversales foncées qui divisent le Bacillus megaterium en segments isodiamétriques. De plus, le Bacillus megaterium, d'après Flügge, ne liquéfie pas la gélatine, tandis que le bacille E la liquéfie. A part cela, les deux micro-organismes présentent de grandes analogies. Leurs dimensions, leur aspect, leur résistance à la décoloration par l'iode, leur mode de sporulation, sont les mêmes.

Culture à 22°.— Sur la gélatine en plaque, le bacille E forme, au bout de vingt-quatre heures, des petites taches blanches, arrondies, de 1 millim. de diamètre environ, situées au centre d'une légère dépression transparente de la gélatine. Certaines présentent des contours finement ondulés. Au microscope, on voit que ces taches sont constituées par un assemblage de granulations serrées, plus tassées en certains points, où elles forment des îlots foncés. Des bords partent, en rayonnant, de très fins filaments serrés, d'abord peu distincts, mais qui deviennent bientôt très apparents. Vers la quarante-huitième heure, les colonies se sont étendues et mesurent 2 à 5 millim. de diamètre. Elles forment des godets blanchâtres opaques qui à un faible grossissement présentent la structure suivante :

Au centre, un noyau noirâtre de forme irrégulière, généralement arrondi, puis autour une zone nuageuse grisâtre, mal délimitée et bordée par une collerette de fins filaments onduleux et très serrés. En même temps, au niveau de ces godets, la gélatine est liquéfiée, mais lentement. Le liquide est pâteux et se laisse étirer en très longs fils par l'aiguille de platine.

Ensemencé par piqûre dans des tubes de gélatine, le bacille E forme au bout de vingt-quatre heures un entonnoir cupuliforme de 1 centim. de profondeur environ et dont l'orifice taillé à pic mesure environ 6 millim. de diamètre. A l'intérieur, la géla-

tine liquéfiée est louche, grisâtre. La tige de l'entonnoir est formée par des granulations blanches très serrées. Au bout de quarante-huit heures, la liquéfaction gagne en surface et en profondeur. La gélatine liquéfiée devient plus fluide mais reste louche. Au cinquième jour, l'orifice de l'entonnoir occupe toute la surface du cylindre de gélatine. La cupule s'est transformée en un large cône rempli de gélatine liquide ; au fond de ce cône se trouve un amas grumeleux blanchâtre. Arrivée à cette période, la culture garde longtemps cet aspect.

Culture à 37°.—Cultivé sur l'agar-agar en plaque, le bacille E forme, au bout de vingt-quatre heures, des pastilles blanchâtres presque mastic, irrégulièrement arrondies et mesurant environ 8 millim. de diamètre. Elles font une saillie assez marquée à la surface de la gélose. Au microscope, elles apparaissent comme des disques noirâtres opaques, dont la zone marginale jaunâtre présente une vague et irrégulière striation. Quand la culture est vieille, les colonies s'ombiliquent.

Sur l'agar-agar inoculé par strie, on voit, au bout de vingt-quatre heures, une traînée blanche, luisante, à contours à peine ondulés, et nettement en relief : elle mesure environ 1 centim. de large et 1 millim. d'épaisseur. Le centre est plus épais et plus opaque que les bords. Cette traînée s'étend rapidement et forme, au bout de quarante-huit heures, une couche blanche d'aspect un peu nacré, d'épaisseur irrégulière et présentant çà et là des îlots mamelonnés plus opaques. Cette couche est molle et se laisse facilement dissocier par le fil de platine. Au bout de quatre ou cinq jours, elle recouvre toute la surface de l'agar-agar. Avec le temps, sa couleur blanche se ternit et finit par devenir jaune grisâtre.

Sur le sérum, ce micro-organisme forme, au bout de vingt-quatre heures, une couche épaisse, grisâtre, humide, présentant quelques saillies mamelonnées. Dans le liquide du fond du

tube, on voit un précipité floconneux blanchâtre ; le sérum est peu à peu liquéfié.

Quand on ensemence E dans le bouillon neutre, celui-ci louchit légèrement au bout de vingt-quatre heures. Au bout de quarante-huit heures, le louche est plus accentué. Au troisième ou quatrième jour, le développement est très apparent. A la surface du bouillon, il se forme une pellicule blanche, mince au centre, plus épaisse sur les bords. Cette pellicule est très friable. Dans le liquide flottent quelques petits grumeaux et au fond du tube on voit un précipité assez abondant.

Dans le bouillon acide, le développement est plus lent et moins luxuriant.

Ce micro-organisme se développe assez bien dans la liqueur de Cohn.

Sur la pomme de terre, il forme, au bout de vingt-quatre heures, une plaque arrondie ou ovalaire, blanche, luisante et très en relief. La surface de cette plaque est absolument lisse ; sa substance est molle, visqueuse, et se laisse étirer par l'aiguille de platine en longs filaments.

XI. *Bacille* F. — Ces bacilles sont pour la plupart rectilignes ; les plus longs sont légèrement incurvés. Leurs extrémités sont arrondies, presque effilées. Ils sont isolés ou associés par deux ; quelquefois ils forment des chaînettes composées de trois ou quatre articles inégaux. Ils mesurent depuis 3μ jusqu'à 10 et 12μ, en moyenne 7μ; leur largeur est de 0μ,8. Ils sont doués d'un mouvement très vif, même à une température assez basse. Le mouvement consiste en un glissement pour les bacilles les plus courts, en ondulations pour les plus longs. Le mouvement est dû à un flagellum qui se colore par l'hématoxyline. Les bacilles isolés ont un flagellum à chaque extrémité. Sur l'agar-agar, la longueur des bacilles ne dépasse pas 7 à 8μ et leur largeur varie de 0μ,9 à 1μ. C'est dans le bouillon neutre qu'ils atteignent leurs plus

grandes dimensions. Quand ces bacilles sont vieux, ils absorbent très irrégulièrement la matière colorante. Ils forment une spore elliptique, médiane, à grand axe parallèle à l'axe du bacille. Les bâtonnets les plus long possèdent parfois 2 spores.

Culture à 22°. — Ensemencé dans de la gélatine en plaque, F forme des colonies surtout dans la profondeur ; ou plutôt, les colonies profondes sont les premières apparentes. Ce sont des taches arrondies, grisâtres, d'un aspect moiré, mesurant 1/2^{mm} à 1^{mm},1/2 de diamètre. Examinées au microscope, elles présentent sur un fond grisâtre finement granulé des taches plus foncées, nuageuses, de forme irrégulière et irrégulièrement distribuées. Quand les colonies sont vieilles, ces taches se réunissent et forment un îlot foncé sur un fond clair. A la surface de la gélatine, on voit se former des petits godets de 1/2 millim. à 1 millim. de diamètre. Ces godets sont très régulièrement arrondis, gris jaunâtres, et paraissent pour ainsi dire creusés à l'emporte-pièce. Au microscope, ces colonies présentent une teinte brunâtre, jaune clair vers le centre. Ces godets réfléchissent fortement la lumière : à l'intérieur, en effet, se trouve une mince couche de gélatine liquéfiée. Ils s'étendent très peu. Dans les cultures même qui datent d'un mois, les plus grands ne dépassent pas 3 millim. Leur coloration devient alors franchement jaune.

Ensemencé par piqûre dans de la gélatine en tubes, ce microorganisme forme, au bout de quarante-huit heures, un entonnoir très étroit et très profond. La partie supérieure est occupée en grande partie par de l'air. Au-dessous, le trait de piqûre est revêtu d'un enduit blanc jaunâtre. Cet entonnoir s'agrandit un peu les jours suivants, et, au bout de cinq ou six jours, l'aspect de la culture est tout à fait caractéristique. Au-dessous d'un enfoncement étroit, à pic, et un peu anfractueux, on voit un boyau, large de 4 à 5 millim. environ, contenant de la gélatine

liquéfiée. Au fond de ce boyau se trouvent entassés des grumeaux jaunâtres formant un volumineux boudin.

L'entonnoir s'élargit avec le temps, mais la gélatine liquéfiée occupe toujours seulement sa partie inférieure.

Culture à 37°. — Ensemencé sur de l'agar-agar, F forme, au bout de vingt-quatre heures, une couche grisâtre légèrement translucide, faisant un relief à peine appréciable, et de forme irrégulière. Au bout de quarante-huit heures, cette couche gagne en surface et s'épaissit un peu. Sa partie inférieure se ride légèrement. Vers le quatrième jour, elle devient légèrement jaunâtre. Au bout d'une semaine environ, cette coloration jaune est plus marquée. L'agar-agar sous-jacent a bruni légèrement; toute sa surface est recouverte par une nappe grisâtre dans sa partie supérieure, jaunâtre et ridée à la partie inférieure. Le liquide du fond du tube contient des grumeaux blanc jaunâtre.

Sur de l'agar-agar étendu en plaque, ce microbe forme des gouttelettes jaune grisâtre, arrondies, en relief et semi-transparentes au début. Au microscope, ces colonies présentent une teinte ocracée plus claire à la périphérie. Elles paraissent finement granulées, comme sablonneuses. Dans la profondeur, elles apparaissent, au microscope, comme des disques noirs, arrondis, ovalaires, et quelquefois comme des plaques anguleuses.

Sur le sérum, le bacille F forme une traînée grisâtre, à bords dentelés, semi transparente au début, puis opaque. Cette traînée s'élargit rapidement et finit par former une nappe grisâtre très ténue et finement ridée. Le sérum brunit légèrement avec le temps, mais n'est pas liquéfié.

Le bouillon neutre ensemencé avec ce microbe se trouble au bout de vingt-quatre heures. Des grumeaux grisâtres assez volumineux et assez nombreux sont en suspension dans le liquide. Dans les couches supérieures du bouillon, on voit quelques petits flocons blanchâtres. Au fond du tube, il se forme un dépôt

volumineux et assez lourd de grumeaux jaunâtres. Le trouble du bouillon est persistant.

Dans le bouillon acide, le trouble est moins marqué au début. Au bout de quarante-huit heures, on voit flotter quelques nuages blanchâtres qui se dissolvent quand on agite légèrement le tube. Vers le quatrième jour, on aperçoit quelques grumeaux et un précipité floconneux jaunâtre, abondant, au fond du liquide. Le trouble est persistant.

Dans la liqueur de Cohn, le développement est faible. Le liquide louchit un peu au bout de vingt-quatre heures.

Sur la pomme de terre, F forme, au bout de vingt-quatre heures, une plaque jaune sale, mince et très légèrement en relief. Sa forme est irrégulière, sa couleur change au bout de quarante-huit heures. Au troisième jour, le centre est rougeâtre, la périphérie ocracée.

XII. *Bacille* G. — Ces bacilles sont isolés ou associés par deux ; parfois ils forment des chapelets composés de cinq ou six articles au maximum et de longueur légèrement différente. On trouve aussi dans les préparations quelques filaments légèrement incurvés, de 8 à 10μ de long. Généralement les bâtonnets sont rectilignes et leurs extrémités sont arrondies ou effilées. Ils sont un peu mobiles, mais seulement à une température supérieure à 30°. Ils mesurent en moyenne 2μ,5 à 3μ de long sur 0μ,8 à 1μ de large. Dans le bouillon de lapin neutre, la longueur moyenne est de 4μ. Sur l'agar-agar, elle tombe parfois à 1μ. Quand ces bacilles sont vieux, ils absorbent très irrégulièrement la matière colorante, les extrémités étant toujours un peu plus colorées. Ils se multiplient par division et se reproduisent par sporulation. Il y a généralement une spore par bacille ; elle occupe le milieu du bâtonnet. Dans les filaments, les spores sont plus nombreuses : certains filaments peuvent en renfermer jusqu'à quatre. Ces spores sont ovalaires.

Culture à 22°. — Ensemencé dans de la gélatine étendue en plaque, ce micro-organisme forme, au bout de vingt-quatre heures, des colonies à la surface et dans la profondeur. A la surface, ce sont des plaques irrégulièrement arrondies, en relief et de dimensions variables. Leur couleur est gris jaunâtre, leur centre plus opaque que la périphérie. Leur substance est assez concrète.

Dans la profondeur, on voit à l'œil nu des petits points jaunâtres de forme irrégulière, mais généralement arrondis. Au microscope, ces colonies profondes présentent l'aspect de disques brunâtres, granuleux, le plus souvent arrondis ou ovalaires, quelquefois grossièrement losangiques. Les colonies superficielles apparaissent au microscope comme des taches irrégulièrement arrondies, à pourtour nettement limité. Elles semblent parsemées de granulations assez dispersées, de forme et de volume irréguliers. La coloration jaunâtre de la colonie va en s'atténuant jusqu'à la périphérie, qui est claire. On voit à leur intérieur une tache brune volumineuse, granuleuse, arrondie, dont la couleur foncée tranche sur le reste de la colonie. Quelques-uns de ces noyaux ont des contours nettement arrêtés, d'autres ont des limites mal accusées. Ces noyaux se voient à l'œil nu comme une tache blanche se détachant sur le fond jaunâtre de la colonie. Au microscope, on aperçoit, en dehors de ce noyau, quelques granulations assez volumineuses, foncées et clairsemées. Quand la culture est vieille, les colonies perdent un peu de leur relief. Le noyau intérieur s'étend et finit par occuper les 2/3 de la surface. La gélatine n'est pas liquéfiée, mais seulement un peu ramollie.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine, G forme au bout de vingt-quatre heures un clou à tête aplatie, ronde, grisâtre, luisante, à peine en relief à la surface du cylindre de gélatine. Le centre de cette tête est un peu plus opaque que la périphérie. La tige, gris jaunâtre, est grêle, presque transparente.

Au bout de quarante-huit heures, la tête s'élargit et perd complètement son relief, la tige s'épaissit un peu. Vers le troisième jour, la tête occupe toute la surface du cylindre de gélatine. Au quatrième jour, à sa place, se trouve un godet large et peu profond, rempli de gélatine liquéfiée un peu visqueuse. La liquéfaction progresse les jours suivants. Vers le cinquième jour, le godet mesure 4 millim. environ de profondeur ; son orifice occupe toute la surface du cylindre de gélatine. A ce godet fait suite un infundibulum étroit et effilé. La gélatine liquéfiée est louche, grisâtre et parsemée de nombreux flocons grisâtres. Vers le septième ou huitième jour environ, le cylindre de gélatine est liquéfié sur une hauteur de 1 centim. et demi environ. La gélatine liquéfiée présente le même aspect qu'au début de la liquéfaction ; elle est seulement plus fluide.

Culture à 37°. — Sur l'agar-agar, ce bacille forme, au bout de vingt-quatre heures, une couche mince, presque translucide et grisâtre ; elle est parsemée d'îlots blanchâtres, opaques, mal limités. Cette couche recouvre à peu près toute la surface de l'agar-agar. Le liquide du fond du tube est louche et renferme des grumeaux blanchâtres. Au bout de quarante-huit heures, la couche superficielle s'épaissit légèrement. Au troisième ou quatrième jour, les régions inférieures de la culture sont sensiblement plus épaisses que la partie supérieure. La nappe, d'abord grisâtre et presque transparente, s'opacifie et présente quelques crêtes circonscrivant de petits alvéoles de forme irrégulière.

Au bout de vingt-quatre heures, le sérum est tapissé par une membrane lisse, gris jaunâtre et mince. Le liquide du fond du tube est louche. Au bout de quarante-huit heures, cette membrane s'épaissit et le sérum commence à être liquéfié. La liquéfaction est à peu près complète au bout de cinq ou six jours.

Quand on ensemence G dans du bouillon neutre, celui-ci louchit légèrement au bout de vingt-quatre heures. Le louche s'ac-

centue au bout de quarante-huit heures. Quelques flocons grisâtres se forment. A la surface flotte une membrane blanc grisâtre, mince et légèrement tomenteuse. Quand on agite légèrement le tube, cette membrane tombe au fond du bouillon, mais est remplacée par une autre, à la surface, au bout de douze à quinze heures.

Dans le bouillon acide, le développement est moins luxuriant. Le bouillon se trouble légèrement, au bout de quarante-huit heures, et un dépôt floconneux se forme au fond du tube. Une pellicule grisâtre friable apparaît à la surface.

Dans la liqueur de Cohn, le développement est à peu près nul.

Ensemencé sur la pomme de terre, G forme à la surface une couche humide, luisante, très molle, d'un jaune brun sale. Cette couche présente quelques légères saillies mamelonnées. Au bout de quarante-huit heures, l'aspect de la culture change : la pomme de terre est tapissée par une membrane très mince, brun jaunâtre, présentant des crêtes qui circonscrivent des alvéoles irréguliers. Cette membrane s'épaissit et sa coloration se fonce avec le temps.

XIII. *Bacille* H. — H est un bâtonnet très court et très grêle, à extrémités arrondies. Tantôt isolés, tantôt associés deux à deux, ces microbes forment rarement de courtes chaînettes et sont doués d'une très grande mobilité. Les mouvements consistent en glissements et en oscillations très rapides. Quand ces bacilles sont associés par deux, leurs extrémités sont souvent si rapprochées qu'on les prendrait facilement pour un seul bâtonnet étranglé en son milieu. Ils mesurent $0\mu,7$ à 1μ de long sur $0\mu,4$ de large. A un faible grossissement, on croirait avoir affaire à des microcoques ovalaires. Dans le bouillon de lapin neutralisé, leur longueur augmente et arrive à $1\mu,2$.

Sur l'agar-agar, les dimensions sont à peu près les mêmes que sur la gélatine. Quand ces bacilles sont vieux, ils n'absor-

bent la matière colorante qu'à leurs extrémités. Ils forment une toute petite spore arrondie, terminale, qu'on ne peut apercevoir qu'à un très fort grossissement.

Culture à 22°. — Sur des plaques de gélatine, les microbes forment, au bout de vingt-quatre heures, des petits godets arrondis, peu profonds, mesurant jusqu'à 3^{mm} de diamètre. A l'œil nu, ils présentent une teinte grisâtre, avec une petite tache blanche, de forme irrégulière au centre. Au microscope, ils paraissent parsemés de granulations très fines, parmi lesquelles se détachent, au centre de la colonie, des corpuscules arrondis beaucoup plus volumineux. A la périphérie, on voit une bande grisâtre plus claire, très finement granulée et à limites mal accusées. Dans la profondeur de la gélatine, on voit aussi à l'œil nu de nombreux petits points blanc jaunâtre qui, au microscope, apparaissent comme des disques brunâtres, granuleux, plus foncés au centre qu'à la périphérie. Celle-ci est constituée par un liséré clair, très étroit, qu'entoure une ligne foncée, très étroite également. Les colonies superficielles, au début, présentent un aspect semblable. En se développant, elles forment des taches grisâtres arrondies, granuleuses, qui, au microscope, présentent une teinte ocracée et un noyau central plus foncé, à limites vagues. C'est ce noyau qui en se fragmentant forme les corpuscules ronds, volumineux, qu'on trouve dans les colonies adultes. Au bout de trente-six heures, les godets superficiels se sont élargis, mais leur aspect s'est peu modifié. La zone marginale, finement granulée, s'est seulement transformée en une ligne sombre, étroite, assez nettement dessinée. En même temps la gélatine se liquéfie. Au bout de quarante-huit heures, à 22°, la liquéfaction est complète.

La gélatine liquéfiée est fluide, louche, grisâtre, parsemée de grumeaux. Elle exhale une odeur légèrement putride.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine, ce bacille

forme, au bout de vingt-quatre heures, une petite cupule régulièrement arrondie, dont l'orifice mesure environ 7 à 8 millim. de diamètre. Sa profondeur est de 2 millim. environ. Du fond de cette cupule part un infundibulum étroit, effilé. La gélatine liquéfiée contenue dans la cupule et dans l'infundibulum est grisâtre et légèrement louche. Au fond de la cupule, on voit un petit dépôt jaunâtre. Au bout de quarante-huit heures, la cupule s'élargit et devient plus profonde. Au troisième jour, elle occupe toute la surface du cylindre de gélatine ; l'infundibulum élargi se termine en cul-de-sac. La gélatine liquéfiée, trouble dans les couches supérieures, est simplement louche au fond de la cupule. Vers le cinquième ou sixième jour, tout le cylindre de gélatine est liquéfié sur une hauteur de 1 centim. et demi. Sur la gélatine restée solide, on voit un dépôt jaunâtre assez abondant au-dessus duquel la gélatine liquéfiée est à peu près limpide.

Culture à 37°. — Sur l'agar-agar, au bout de vingt-quatre heures, H forme le long de la strie d'inoculation une traînée blanc jaunâtre presque opaque et en relief. Son pourtour est irrégulièrement ondulé. Le centre est plus épais et plus opaque que les bords. Au niveau des points de piqûre, on aperçoit de petits amas blanc jaunâtre, plus en relief. Au bout de quarante-huit heures, cette traînée s'élargit et son relief devient moindre. Vers le quatrième ou cinquième jour, on voit à la surface de l'agar-agar une couche blanchâtre très légèrement saillante et irrégulièrement plissée. Avec le temps, la couleur devient légèrement jaunâtre et le substratum nutritif brunit un peu. Quelquefois, surtout dans les premières cultures, on voit se former quelques bulles de gaz dans la gélose.

Sur le sérum, H forme une plaque jaunâtre, humide, luisante, légèrement en relief, à pourtour dentelé. Cette plaque, presque transparente au début, s'opacifie et s'étale à la surface du sérum,

qu'elle finit par recouvrir complètement ; sa surface présente quelques légères saillies.

Ensemencé dans le bouillon neutre, le bacille H le trouble fortement au bout de vingt-quatre heures. Dans le liquide, on voit en suspension des petits grumeaux jaunâtres, et au fond du tube un léger dépôt floconneux. Au bout de quarante-huit heures, le trouble persiste, le dépôt floconneux a augmenté, une légère pellicule blanche apparaît à la surface. Au troisième ou quatrième jour, cette pellicule s'épaissit considérablement, mais elle est friable, et à la moindre agitation du tube se résout en grumeaux. Le bouillon exhale une odeur légèrement putride.

Dans le bouillon acide, le développement se fait plus lentement. Le bouillon louchit légèrement au bout de vingt-quatre heures ; un dépôt jaunâtre peu abondant se fait au fond du tube. Puis le trouble s'accentue, des flocons grisâtres apparaissent, et une pellicule mince et friable se forme à la surface.

Ensemencé dans la liqueur de Cohn, H la trouble légèrement au bout de trois jours.

Sur la pomme de terre, on voit, au bout de vingt-quatre heures, une traînée jaune grisâtre en relief. Les bords en sont ondulés. La coloration change les jours suivants et devient lie de vin clair. Cette dernière teinte est persistante. La culture s'étend lentement à la surface de la pomme de terre.

XIV. *Bacille* I.— Ces bacilles, très petits, rectilignes, à extrémités arrondies, offrent une assez grande ressemblance avec les précédents. Leurs dimensions sont seulement un peu plus considérables et leur mobilité est moindre. Leur longueur, sur la gélatine, est de $1\mu,5$ en moyenne; les plus longs arrivent à $2\mu,5$, mais ils sont rares ; leur largeur est de $0\mu,6$. Ils sont souvent associés par deux ou isolés ; quelquefois ils forment des chaînettes courtes et brisées. Dans les cultures vieilles, ces bacilles absorbent mal les colorants et ne les fixent qu'aux extrémités.

Ils forment une spore arrondie terminale. Ils atteignent leurs dimensions les plus grandes dans le bouillon neutre. Ils atteignent leur taille minima dans le bouillon acide et sur l'agar-agar.

Culture à 22°. — Ensemencés dans la gélatine en plaque, ces bacilles forment au bout de vingt-quatre heures, à la surface, des petites taches grisâtres arrondies, mesurant 2 à 3 millim. de diamètre et légèrement enfoncées dans la gélatine. On voit aussi de nombreuses colonies dans la profondeur, sous forme de petits points blanc jaunâtre présentant au microscope une couleur brune et des bords nettement dessinés, parfois légèrement ondulés. A côté de ces colonies, au début, on en trouve (toujours dans la profondeur) de plus avancées en développement, granuleuses, irrégulièrement arrondies et d'une teinte plus claire. Les colonies superficielles, au début, présentent au microscope une teinte jaune clair. Elles apparaissent comme des disques finement granuleux, recouverts d'un feutrage serré de filaments très courts et extrêmement fins. Dans les colonies plus développées, on voit au centre un noyau arrondi mal accusé et autour de lui une large zone granuleuse plus claire. Cette zone est traversée par quelques tractus brunâtres rayonnant du centre à la périphérie. Celle-ci est constituée par une ligne claire granuleuse, entourée par une zone étroite jaunâtre qui paraît hérissée de petits cils extrêmement ténus. Enfin, au bout de trente-six heures, les colonies forment des godets arrondis plus larges et présentant la structure suivante : au centre, une masse nuageuse jaunâtre formant un noyau à limites mal accusées. De ce noyau partent, comme des rayons de roue, des tractus brunâtres qui vont se perdre à la périphérie, en traversant une large zone claire parsemée d'îlots finement granuleux. A la phériphérie, se trouve d'abord une ligne sombre, étroite, granuleuse, entourée d'une bordure plus claire, parsemée de granulations. Ces colonies liquéfient la gélatine moins rapidement que celles du microbe précédent. Au

bout de quarante-huit heures cependant, la liquéfaction est très avancée. Elle est totale au commencement du troisième jour. Le liquide est un peu épais, louche, gris jaunâtre ; à sa surface on voit des débris de membrane.

Quand on ensemence par piqûre ce bacille dans de la gélatine en tubes, on voit au bout de vingt-quatre heures, à la surface de la gélatine, une tache blanchâtre de 2 millim. environ de diamètre et légèrement déprimée. Le pourtour de cette tache est un peu plus transparent que le centre. Au-dessous, on aperçoit une mince couche de gélatine liquéfiée. Le trait de piqûre est recouvert d'un enduit blanchâtre très mince. Au bout de quarante-huit heures, l'aspect de la culture a changé : à la surface de la gélatine se trouve un godet arrondi (de 8 millim. de diamètre environ), peu profond et rempli de gélatine liquéfiée, trouble, jaunâtre. Au fond de cette cupule se trouve un dépôt jaunâtre, peu volumineux, et au-dessous une tige large grisâtre se terminant en pointe. Au bout de cinq à six jours, la gélatine est liquéfiée sur une hauteur de 1 centim. environ. Le liquide, trouble au début, ne se clarifie pas.

Culture à 37°. — Sur l'agar-agar, I forme au bout de vingt-quatre heures, le long de la strie d'inoculation, une traînée grisâtre, luisante, en relief et presque transparente, sauf quelques amas blanchâtres aux points de piqûre. Les bords de cette traînée sont à peine ondulés. Les jours suivants, la culture s'étend lentement à la surface de l'agar-agar ; son relief diminue, mais elle reste toujours grisâtre, luisante et semi-transparente.

Sur le sérum, ce micro-organisme forme une mince couche gris jaunâtre, avec des saillies mamelonnées. Cette couche s'étend rapidement et finit par recouvrir toute la surface du sérum, qui est complètement liquéfié au bout de sept à huit jours.

Le bouillon neutre devient louche, presque trouble, au bout de vingt-quatre heures. Au fond du tube on voit un léger dépôt

blanc jaunâtre. Le trouble devient plus marqué au bout de quarante-huit heures et à la surface se forme une pellicule blanche assez épaisse. Au fond du tube existe un dépôt floconneux assez abondant.

Dans le bouillon acide, le bacille I se développe assez bien.

Dans la liqueur de Cohn, au contraire, il ne se développe pas.

Sur la pomme de terre, il forme une plaque en relief luisante, étroite, à bords irrégulièrement ondulés. Sa coloration est jaune ocracé. Cette plaque est molle, un peu visqueuse. Elle s'étend lentement et se fonce un peu avec le temps.

XV. *Bacillus butyricus* (ou *Amylobacter*). — Le micro-organisme que je décris sous ce nom est un bacille que produit la fermentation butyrique des substances hydrocarbonées, amidon ou sucre, qui dissout la cellulose fraîche avec assez d'énergie et qui décompose le lactate de chaux pour former de l'acide butyrique. Ce bacille n'est pourtant pas le ferment butyrique découvert par Pasteur. Ce dernier, en effet, est un anaérobie pur ; la présence de l'oxygène, même en quantité très faible, lui est nuisible, tandis que le bacille que j'ai isolé, quoique se développant très bien dans les milieux anoxygénés, peut se développer aussi en présence de l'air. J'incline à croire que c'est le Bacillus amylobacter ou le Bacillus butyricus de Hüeppe. Ces deux micro-organismes (peut-être le même) peuvent vivre également bien dans un milieu privé d'oxygène et dans un milieu oxygéné, et donnent lieu à la production d'une grande quantité d'acide butyrique avec mise en liberté d'hydrogène et d'acide carbonique. J'ai trouvé très souvent ce bacille dans le produit de lavage de mon estomac ; il se développait à côté du Vibrio rugula dans les cultures faites à l'abri de l'oxygène. Il est morphologiquement identique au ferment butyrique de Pasteur. C'est un bâtonnet mesurant 3 à 10μ de long sur 1μ ou un peu moins de large. La plupart des bâtonnets sont rectilignes, les plus

longs sont légèrement incurvés. Ces bacilles sont isolés ou associés par deux. Ils forment assez souvent des chaînes composées de cinq ou six articles inégaux. Leurs extrémités sont arrondies. Ils sont doués d'une très grande mobilité. La sporulation présente des caractères variés. Tantôt la spore se forme à une extrémité du bâtonnet, qui prend alors l'aspect d'une épingle ; tantôt c'est au au milieu du bacille que se trouve la spore, et le microbe se renfle alors en fuseau. Les spores sont volumineuses, elliptiques, très réfringentes. Cultivé sur l'amidon ou même sur le sucre, ce bacille a la propriété de former en son intérieur une substance particulière, la *granulose*, qui se colore en bleu par l'iode.

Culture à 22°. — Ensemencé dans de la gélatine étendue en plaque et mise à l'abri de l'air, ce micro-organisme forme, au bout de vingt-quatre heures des colonies, à la surface et dans la profondeur. A la surface, on voit des godets de 5 à 6 millim. de diamètre en moyenne, arrondis, grisâtres, parsemés de taches plus foncées et remplis de gélatine liquéfiée. Au microscope, ces godets paraissent parsemés de fines granulations très serrées, surtout à la périphérie (qui est plus foncée), plus dispersés au centre, qui est parfois semi-transparent. Les contours de ces godets sont nettement dessinés. La gélatine est rapidement liquéfiée. Les colonies profondes apparaissent à l'œil nu comme des taches blanchâtres, arrondies. Au microscope, ces taches paraissent composées de deux parties: une partie centrale, opaque, foncée, et une zone périphérique plus claire, finement granulée. La gélatine liquéfiée est fluide, louche, gris jaunâtre. Elle exhale une odeur assez complexe où on peut distinguer celle de l'acide butyrique, mais assez faible.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine, le Bacillus butyricus y forme un infundibulum étroit et profond, rempli de gélatine liquéfiée. Celle-ci est légèrement louche et grisâtre. Au bout de quarante-huit heures, cet infundibulum s'élargit. Il me-

sure alors 5 à 6 millim. de large. Dans la gélatine liquéfiée, on voit en suspension de nombreux petits grumeaux blanchâtres. La liquéfaction progresse les jours suivants. L'infundibulum s'élargit de plus en plus, et, finalement, toute la gélatine est liquéfiée. Le liquide est alors clair et fluide ; au fond du tube se trouve un dépôt floconneux blanc jaunâtre.

Cultures à 37°. — Sur l'agar-agar étendu en plaque, ce bacille forme des plaques grisâtres un peu transparentes, de forme irrégulière, légèrement en relief et mesurant 2 à 3 millim. carrés de superficie. Quand les colonies sont nombreuses, elles se fusionnent et forment une nappe grisâtre en relief, molle et se laissant facilement dissocier par le fil de platine.

Sur l'agar-agar en tubes, il forme une traînée blanc grisâtre étroite, en relief, à pourtour ondulé. Au bout de vingt-quatre heures, de nombreuses bulles de gaz se forment dans la gélose et la fragmentent. Au fond du tube s'amasse une petite quantité de liquide transparent.

Sur le sérum, le Bacillus butyricus forme des plaques arrondies, blanchâtres, luisantes, qui se fusionnent et recouvrent le sérum d'une couche assez épaisse irrégulièrement mamelonnée. Des bulles de gaz se forment et fragmentent le sérum.

Il se développe très bien dans le bouillon neutre ; le bouillon se trouble au bout de vingt-quatre heures ; en agitant le tube, on voit se dégager quelques bulles de gaz. Le jour suivant, le trouble persiste ; un dépôt grumeleux jaunâtre se forme au fond du tube. Le bouillon exhale une odeur désagréable.

Dans le bouillon acide, le développement est le même.

Dans la liqueur de Cohn, développement très maigre.

Sur la pomme de terre, on voit, au bout de vingt-quatre heures, une plaque blanche, luisante, en relief, présentant des saillies et des creux. Cette plaque pénètre assez profondément par sa face profonde dans la pomme de terre ; autour d'elle se forment parfois quelques bulles de gaz.

XVI. *Vibrio rugula.* — Ce microbe est un anaérobie *pur*. L'oxygène, même en très faible quantité, nuit à son développement. Le Vibrio rugula est assez abondant dans tout le tube digestif. On le rencontre non seulement dans l'estomac, mais aussi dans le tartre lingual et dentaire, dans l'intestin et dans les matières fécales. Vignal le signale parmi les micro-organismes de la bouche ; son micro-organisme diffère du microbe étudié par Prasmowsky par quelques caractères morphologiques.

Le Vibrio rugula que j'ai trouvé dans mon estomac à jeun est exactement le même que celui qui a été isolé par Vignal dans la bouche. Il est plus court et plus grêle que le *Vibrio rugula* de Prasmowsky. C'est un bâtonnet tantôt rectiligne, tantôt (et c'est ce qui arrive le plus souvent) présentant plusieurs courbures (2 à 3). Ces courbures, qu'on observe dans les préparations, résultent de la position du micro-organisme au moment de sa mort. Ses extrémités sont arrondies. Sa longueur varie entre 5 et 16 μ (5 à 6 μ en moyenne). Sa largeur moyenne est de 1 μ. Ces microbes sont tantôt isolés, tantôt associés par deux; quelquefois ils forment de longues chaînes ; ils sont très mobiles. Quand ils sont vieux et qu'on les traite par les colorants d'aniline, la matière colorante se fixe sur le bâtonnet par zones annulaires. Ils ont alors une extrémité renflée en forme de tête d'épingle et leur protoplasma paraît nettement granuleux. C'est dans l'extrémité renflée du bâtonnet que se forment les spores.

Culture à 22°. — Ce microbe ne peut se cultiver qu'à l'abri de l'oxygène. Je l'ai cultivé au moyen des procédés que j'ai décrits au commencement de ce travail.

Ensemencé dans de la gélatine en plaque, le Vibrio rugula forme dans la gélatine des globules blanc jaunâtre arrondis, absolument opaques et mesurant 3 millim. environ de diamètre. Au bout de trente-six heures, ce globule s'entoure d'une zone assez large, jaunâtre, moins opaque, et qui, au microscope,

paraît granuleux. Ces colonies liquéfient la gélatine, et cette gélatine liquéfiée forme autour de ces colonies opaques une zone annulaire grisâtre, presque limpide. En même temps, assez souvent, on voit se former dans la gélatine des bulles de gaz. Au bout de trois ou quatre jours, la gélatine est totalement liquéfiée. Le liquide est louche. Quand on ouvre le matras, les gaz s'échappent bruyamment et l'on perçoit une odeur infecte, fécaloïde.

Ensemencé par piqûre dans un tube de gélatine, le Vibrio rugula forme un clou à tête petite, peu saillante et à tige blanche trapue, renflée en massue. Au bout de quarante-huit heures, la culture a changé d'aspect : la gélatine est liquéfiée en partie. Le liquide, opaque, blanc grisâtre, remplit un entonnoir dont l'orifice occupe à peu près toute la surface du cylindre de gélatine. Au fond de l'entonnoir, se trouve un précipité granuleux blanchâtre. La liquéfaction progresse rapidement, et au bout de cinq à six jours toute la gélatine est liquéfiée. Le liquide est alors plus clair et au fond du tube on voit un précipité blanc jaunâtre.

Culture à 37°. — Cultivé sur l'agar-agar, le Vibrio rugula forme, au bout de vingt-quatre heures, des petits points blanchâtres très légèrement saillants; ces points se fusionnent et finissent par former à la surface de l'agar-agar une couche blanchâtre, mince, légèrement ridée. Des bulles de gaz assez nombreuses se forment dans la gélose. Ensemencé sur le sérum, il forme une nappe blanchâtre présentant quelques saillies et recouvrant toute la surface du sérum. Celui-ci commence à être liquéfié. La liquéfaction est complète au bout de cinq à six jours.

Dans le bouillon de lapin neutralisé, le Vibrio rugula se développe très bien. Il trouble assez fortement ce liquide au bout de vingt-quatre heures : des nébulosités grisâtres et des grumeaux sont en suspension dans le bouillon. Au bout de qua-

rante-huit heures, on aperçoit un léger dépôt blanchâtre au fond du tube. Ce dépôt augmente les jours suivants. Le trouble persiste. Dans le bouillon acidifié à 1/1000, il se développe moins bien. Le trouble est moins considérable et le dépôt moins abondant. De plus, le liquide exhale une odeur moins forte.

Sur la pomme de terre, on voit se former, au bout de vingt-quatre heures, une plaque blanchâtre, en relief, présentant des crêtes et des sillons. Au bout de quarante-huit heures, cette plaque gagne en surface. Les jours suivants, sa couleur vire au blanc jaunâtre sale. Cette plaque adhère assez fortement à la pomme de terre, dans laquelle elle s'enfonce par sa face profonde.

RÉSISTANCE DES MICRO-ORGANISMES AU SUC GASTRIQUE.

Maintenant que nous connaissons la morphologie de ces microbes et la façon dont ils se comportent vis-à-vis des divers milieux de culture, nous devons étudier leur résistance au suc gastrique. Tous ces micro-organismes vont, en effet, être en contact (au moment de la digestion), pendant un temps assez long, avec un liquide assez fortement acide; il importe de savoir pendant combien de temps ils pourront supporter ce contact sans que leur vitalité soit compromise. Vignal, dans son Mémoire, a étudié l'action du suc gastrique de chien sur les microbes de la bouche et des matières fécales, et il a trouvé que la résistance des microbes était assez variable, mais pourtant pour la plupart assez considérable. Cette résistance varie suivant l'âge des micro-organismes. Pour citer quelques exemples empruntés à Vignal, les Staphylococcus aureus et albus ne résistent pas une demi-heure, que la culture soit vieille ou de fraîche date; le Leptothrix buccalis ne résiste pas davantage. Par contre, le bacille de la pomme de terre et le Bacillus subtilis résistent plus de vingt-

quatre heures. Je n'ai pas essayé sur les bactéries que j'ai trouvées dans mon estomac l'action du suc gastrique de chien, dont l'acidité est sensiblement plus forte que celle du suc gastrique de l'homme. J'ai voulu me rapprocher le plus possible des conditions normales et j'ai composé un suc gastrique artificiel, en me basant sur la moyenne des analyses du suc gastrique normal. J'ai donc mélangé quelques gouttes de chaque culture des microbes dans du bouillon à une certaine quantité d'un liquide pepsinifère dont l'acidité était de $1^{gr},7$ d'HCl pour 1000. Au bout de demi-heure, de deux à quatre heures,.. de vingt-quatre heures, je faisais une prise dans les tubes ainsi ensemencés et je versais quelques gouttes de liquide dans du bouillon très légèrement alcalin.

J'ai ainsi trouvé que tous les micro-organismes isolés par moi résistaient à ce suc gastrique artificiel pendant un laps de temps qui dépassait de beaucoup la durée du séjour des aliments dans l'estomac, comme l'indique d'ailleurs le tableau suivant.

La Sarcine résiste plus de.....	24 heures.
Le Bacillus pyocyaneus.....	—
Le Bacterium lactis ærogenes.....	—
Le Bacillus subtilis.....	—
Le Bacillus mycoïdes.....	—
Le Coccus A.....	8 heures.
Le Bacille B.....	24 —
Le Bacille C.....	12 —
Le Bacille D.....	24 —
Le Bacille E.....	—
Le Bacille F.....	—
Le Bacille G plus de.....	12 heures.
Le Bacille H.....	24 —
Le Bacille I.....	—
Le Bacillus butyricus.....	—
Le Vibrio rugula un peu plus de.....	2 heures.

Il est donc permis d'affirmer que tous ces micro-organismes

pourront arriver dans l'intestin sans rien perdre de leur vitalité.

Le Vibrio rugula seul, lorsque la culture est jeune, ne resiste guère plus de deux heures ; mais d'après Vignal, lorsque la culture est vieille, est riche en spores, il résiste plus de huit heures.

Quant à la bile et au suc pancréatique, ils n'exercent aucune action nuisible sur les microbes, comme il ressort des expériences de Vignal.

ACTION DES MICROBES DANS L'ESTOMAC ET DANS L'INTESTIN.

Les microbes contenus dans l'estomac exercent-ils une action sur les substances alimentaires pendant leur séjour relativement court dans cet organe ? Il est difficile, on le comprend, de répondre d'une façon précise. Ce que je puis affirmer, c'est que, *in vitro*, les micro-organismes ont besoin, pour attaquer et transformer les substances alimentaires, d'une période préparatoire assez longue. On ne trouve pas trace d'action avant une dizaine d'heures au minimum, et cette durée est, on le voit, supérieure à celle de la digestion gastrique. Mais pouvons-nous conclure de ce fait que les microbes n'ont aucune action sur les aliments dans l'estomac ? Comme on l'a vu, une acidité modérée ne gêne pas le développement de nos microbes. L'acidité du suc gastrique ne serait donc pas un empêchement sérieux. De plus, dans l'estomac, se trouvent des diastases dont certaines sont sécrétées par les microbes. Ces diastases peuvent agir alors que les micro-organismes sont inactifs, de sorte qu'il y aurait là une action bactérienne indirecte. Mais, je le répète, tout cela est difficile à élucider, et,

en l'état des choses, nous basant sur les résultats des expériences *in vitro*, nous pouvons penser que le rôle des microbes dans l'estomac est peu important à l'état normal. Il en est tout autrement à l'état pathologique, dans les cas où les aliments restent longtemps dans l'estomac, lorsque le suc gastrique a perdu son acidité normale. Alors des fermentations peuvent s'établir, comme le prouvent certaines analyses de gaz éructés par les malades.

Dans l'intestin, les conditions sont changées; les matières alimentaires séjournent dans ce canal pendant un temps assez long. Cette durée, difficile à évaluer d'une façon même approximative, est, pour Duclaux, d'au moins trois jours. C'est un laps de temps largement suffisant pour permettre aux microbes d'accomplir leur œuvre. Mais, dans l'intestin, le milieu n'est plus le même, non seulement au point de vue de la réaction, qui est alcaline (pour devenir acide, il est vrai, dans les dernières portions du tube intestinal), mais surtout au point de vue des gaz. L'oxygène est en très faible proportion; il finit même par disparaître complètement. Les microbes qui ne peuvent se développer qu'en présence de l'oxygène, comme le Bacillus subtilis, tomberont alors en sommeil. Seuls les anaérobies purs et les anaérobies facultatifs pourront agir, et dans ces circonstances le mode de transformation des substances alimentaires ne sera pas le même qu'à l'air libre. Duclaux a montré que les microbes qui vivaient à l'abri de l'air étaient de très médiocres producteurs de diastases. La transformation des aliments se fera donc, non plus par hydratation, mais par un procédé différent: la fermentation. Pour se procurer l'oxygène dont ils ont besoin, les microbes le prendront à la molécule organique dont il fait partie intégrante. Il y aura donc dislocation de groupements atomiques, avec dégagement de gaz (hydrogène, acide carbonique). De plus, nous ne trouverons pas en aussi grande quantité, dans cette décomposition des aliments à l'abri de l'air, les produits d'oxy-

dation comme les composés ammoniacaux, que l'on trouve comme produits de la vie des microbes à l'air libre.

Nous devons donc nous demander tout d'abord si les microbes de l'estomac peuvent se développer en l'absence d'oxygène.

Pour résoudre cette question, j'ai ensemencé chaque microorganisme dans des tubes de bouillon dont j'avais chassé l'air par les procédés que j'ai décrits dans le chapitre où j'ai exposé la technique qui m'a servi pour l'étude des anaérobies. Le tableau suivant résume les résultats obtenus.

Bouillon de lapin contenu dans des tubes privés d'air et scellés à la lampe :

La Sarcine se développe lentement et très maigrement.	
Le Bacillus pyocyaneus.....	passablement.
Bacterium lactis ærogenes.....	très bien.
Bacillus subtilis.....	pas du tout.
Bacillus mycoïdes.....	assez bien.
Coccus A.....	très mal.
Bacille B.....	bien.
Bacille C.....	assez bien.
Bacille D.....	mal.
Bacille E.....	mal.
Bacille F.....	bien.
Bacille G.....	très mal.
Bacille H.....	bien.
Bacille I.....	bien.
Bacillus butyricus.....	très bien.
Vibrio rugula.....	très bien.

Mais, de ce que certains de ces microbes n'ont qu'un développement très faible dans les milieux anoxygénés, il ne faudrait pas se hâter de conclure qu'ils ne jouent aucun rôle dans la digestion intestinale. Dans les premiers moments, en effet, ils trouvent encore une certaine quantité d'oxygène à leur disposition. Cet oxygène est entraîné dans l'intestin par les bols ali-

mentaires venant de l'estomac, où ils se sont imprégnés de salive, liquide qui envisque une certaine quantité d'air. En second lieu, il serait possible que les micro-organismes, une fois établis dans l'intestin, s'accoutumassent à la rareté ou au manque d'oxygène. C'est une simple hypothèse que j'émets là, et je la donne pour ce qu'elle vaut ; je l'appuie pourtant sur certains faits que j'ai pu observer. En étudiant quelques microbes des matières fécales, j'en ai trouvé qui, dans les premières cultures, donnaient lieu à un développement de gaz, développement que je n'observais plus, dans la suite, en continuant à les cultiver. Des microbes vivant primitivement en anaérobies arrivaient ainsi, par une série de cultures et sans que leur forme variât, à présenter tous les caractères des aérobies.

DEUXIÈME PARTIE

ACTION DES MICROBES DE L'ESTOMAC SUR QUELQUES SUBSTANCES ALIMENTAIRES.

J'ai étudié l'action des micro-organismes sur des substances hydrocarbonées, sur des substances albuminoïdes et sur le lait. A l'exemple de Vignal, j'ai choisi parmi les substances alimentaires celles qu'il est facile de se procurer toujours avec la même composition chimique, afin, comme le dit cet auteur, d'éviter d'embrouiller les données du problème que je me proposais de résoudre. Voici la liste des substances alimentaires que j'ai employées.

Lait écrémé.

Substances hydrocarbonées.	Substances albuminoïdes.
Lactose.	Albumine de l'œuf.
Glucose.	Fibrine.
Sucre de canne.	Caséine.
Amidon.	Gluten.

Ces substances étaient préparées de la façon suivante.

Dans plusieurs séries de ballons, j'introduisais une solution de lactose, de glucose, de sucre de canne, toutes à 4 %, et de l'empois d'amidon à 2 %, 200^{cc} par ballon.

20 gram. d'albumine, de fibrine, de caséine, de gluten dans 200 gram. de liquide par ballon.

200^{cc} de lait écrémé dans une autre série de ballons et pour chaque ballon.

Selon le conseil de Vignal, j'ai employé, pour faire les solu-

tions et pour tenir en suspension les substances solides insolubles, du bouillon de lapin faible au lieu d'eau (1 de bouillon pour 3 d'eau). Vignal a remarqué en effet que, pour faciliter l'attaque des substances alimentaires aux microbes, il fallait d'abord que ceux-ci se trouvassent en présence d'un aliment préparé facilement assimilable. Le bouillon faible remplit ce but.

L'albumine, la fibrine, la caséine, le gluten, cuits d'abord dans l'eau à 100°, étaient réduits en fragments aussi petits que possible; puis, mélangés au bouillon faible, étaient stérilisés à 120° pendant une demi-heure.

Les solutions de lactose, de glucose, de sucre de canne et l'empois d'amidon étaient stérilisés par un chauffage quotidien à 100° pendant une demi-heure et pendant cinq ou six jours.

Le lait était stérilisé à 110° pendant une heure.

Une deuxième série de toutes ces substances était additionnée de craie légivée, pour neutraliser au fur et à mesure les acides qui pouvaient se former.

Enfin une dernière série comprenait toutes ces substances, mais renfermées dans des ballons dont on avait chassé l'oxygène par les procédés connus. Chacun de ces ballons était inoculé au moyen de quelques gouttes d'un bouillon ensemencé l'avant-veille avec le micro-organisme dont je voulais étudier l'action. Enfin chaque série de ballons était accompagnée dans l'étuve à 37° de ballons témoins.

J'ai aussi essayé d'étudier l'action des microbes sur les corps gras (huile d'olive). Pour cela, j'ai déterminé une émulsion assez durable d'une certaine quantité d'huile, au moyen d'une solution faible de soude ou de potasse, additionnée d'une certaine quantité de gomme. Mais ces recherches ne m'ont donné aucun résultat : je n'ai pu observer aucune transformation des matières grasses.

Après ensemencement, le contenu des ballons était analysé

qualitativement au bout d'un certain temps de séjour à l'étuve, douze heures, vingt-quatre heures, quarante-huit heures, trois jours, huit jours et plus. J'ai pu ainsi arriver à déterminer la présence des produits de transformation immédiate et avancée. Voici comment j'opérais pour chacune des substances alimentaires : Je notais d'abord l'aspect, l'odeur et la réaction du milieu; ensuite je puisais une certaine quantité de liquide dans chaque ballon, et, suivant la nature de la substance alimentaire, je cherchais à obtenir les réactions des peptones, du glucose, de l'alcool. Une autre série de ballons me servait à rechercher les acides gras, les produits de transformation des albuminoïdes, comme la leucine, la tyrosine, la butalanine, les composés ammoniacaux.

Quelques détails à ce sujet.

Recherche des acides gras. — Le liquide, exactement neutralisé et filtré, était acidifié par l'acide sulfurique, puis introduit dans une cornue et distillé; je poursuivais la distillation tant que le liquide présentait l'odeur assez caractéristique d'acides gras. J'avais soin d'ajouter un peu d'eau quand la masse s'empâtait. Le produit de la distillation, neutralisé par du carbonate de soude, était évaporé à siccité. Le résidu solide était dissous dans l'alcool. La solution était filtrée, puis évaporée de nouveau à siccité. Le résidu était repris par une petite quantité d'eau distillée. C'est cette dernière solution qui me servait à rechercher les divers acides volatils au moyen des réactions connues.

Le liquide resté dans la cornue, neutralisé par l'eau de baryte, filtré et traité à chaud par l'oxyde de zinc, m'indiquait la présence ou l'absence de l'acide lactique. Pour rechercher l'acide lactique en solution même très étendue, on peut se servir aussi du réactif d'Uffelmann (A. phénique, sol. saturée 3 gouttes, perchlorure de fer 3 gouttes, eau 20^{cc}). Ce liquide, qui a une couleur bleu d'améthyste, colore en jaune les liquides dans lesquels se trouve de l'acide lactique.

Pour rechercher l'alcool, je distillais après neutralisation une certaine quantité de liquide et j'observais s'il se formait ou non, sur le col de la cornue, les stries liquides transparentes indiquées par Pasteur. De plus, le liquide distillé était additionné de 1 gram. d'iode et de 2 gram. de carbonate de soude pur, puis chauffé à 60°. Il se produisait, par refroidissement, un dépôt d'iodoforme si le liquide contenait de l'alcool (c'est la réaction de Muntz).

Pour l'ammoniaque, je la recherchais au moyen du réactif de Nessler (iodhydrargyrate de potassium).

Quant à la leucine, la tyrosine, la butalanine, je me bornais à évaporer à consistance sirupeuse le liquide débarrassé au préalable des acides gras et des alcalis volatils, à examiner ensuite au microscope les cristaux qui se déposaient. Je dissolvais ensuite ces cristaux dans l'eau froide ou bouillante et j'essayais d'obtenir les réactions indiquées dans les traités de chimie organique. J'ai fait la recherche des produits volatils, tels que l'indol, le phénol, le scatol, seulement lorsque j'ai étudié l'action de tous les microbes à la fois sur chaque substance alimentaire. J'indiquerai, quand j'exposerai cette action, les procédés qui m'ont servi à reconnaître l'existence de ces produits volatils.

SARCINA VENTRICULI.

Lait. — Quand on ensemence la sarcine dans du lait, ce liquide ne subit aucun changement au bout de vingt-quatre heures. Au bout de trente-six heures, de quarante-huit heures, pas de modification apparente. Au troisième jour, le lait s'épaissit, sa couleur devient légèrement jaunâtre et la caséine se précipite sous forme de grumeaux assez volumineux, mais friables. Le liquide est opalescent, jaunâtre, et tient en suspension quelques flocons grisâtres. La réaction du liquide est acide. Au bout de sept ou huit jours, la caséine coagulée paraît dissoute

en partie, mais cette dissolution est peu accentuée. La couleur jaunâtre du lait est plus marquée. Les mêmes phénomènes se produisent dans le lait additionné de craie. Malgré le carbonate de chaux, la réaction devient acide ; au septième ou huitième jour, cette acidité disparaît; le liquide contient encore une petite quantité de lactose, des peptones en faible proportion, de la leucine, de la tyrosine, du carbonate, du valérianate et du lactate d'ammoniaque.

Lactose. — La solution de lactose se trouble légèrement au bout de trois jours ; quelques flocons grisâtres flottent dans le liquide. La réaction est légèrement acide. Cette acidité s'accentue un peu les jours suivants : elle est due à la présence d'une certaine quantité d'acide lactique.

Dans la solution de lactose additionnée de craie, les mêmes transformations se produisent. La réaction du liquide au troisième jour est faiblement acide. Le carbonate de chaux ne paraît pas attaqué. Analysé au cinquième jour, le liquide renferme une certaine quantité d'acide lactique, mais tout le lactose n'a pas été transformé, car il réduit encore nettement la liqueur de Fehling.

Caséine. — Attaque lente et faible.

Albumine. — Ensemencée dans du bouillon faible contenant de l'albumine coagulée, la sarcine se développe lentement. Le bouillon louchit faiblement au bout d'un certain temps, mais l'albumine ne subit aucune altération. Au bout de quinze jours, les fragments sont intacts.

Fibrine. — La fibrine n'est pas attaquée non plus.

Gluten. Le gluten reste intact.

Sucre de canne. — Dans une solution de sucre de canne, la sarcine se développe bien, quoique assez lentement. Au bout de quarante-huit heures, le liquide louchit. Il est trouble au

bout de trois ou quatre jours. La réaction est assez nettement acide. Neutralisé et traité par la liqueur cupro-potassique, il ne la réduit pas. L'acidité du liquide est due à la présence d'une certaine quantité d'acide lactique.

Quand le liquide est additionné de craie, il se produit aussi de l'acide lactique, mais on n'observe pas d'interversion du sucre de canne.

Glucose. — Développement assez net au bout de trois jours : la solution est louche et renferme des flocons blanc jaunâtre. La réaction est légèrement acide. Neutralisé et distillé, le liquide n'indique pas l'existence de l'alcool. Traité par le réactif d'Uffelmann avant la neutralisation, il se colore en jaune (A. lactique). Au quinzième jour, la solution réduit encore nettement la liqueur de Fehling.

Amidon. — L'empois d'amidon ne présente aucun changement d'aspect ou de consistance au bout de vingt-quatre heures. Au bout de quarante-huit heures, les couches supérieures commencent à être fluidifiées. On voit dans la masse de l'empois quelques flocons gris jaunâtre. Le liquide est faiblement acide. Au quatrième jour, la fluidification a progressé. Le liquide est clair, fluide et présente une réaction assez nettement acide.

Neutralisé, il ne réduit pas la liqueur de Fehling ; il la décolore seulement légèrement. L'acidité du liquide est due à de l'acide lactique.

Avec la craie, pas de différence dans la marche de l'action.

Conclusion. — En résumé, la sarcine amène quelques modifications, mais faibles et lentes à se produire, dans certains milieux alimentaires.

Elle précipite la caséine du lait et la redissout lentement.

Elle transforme, en partie, le lactose en acide lactique.

Elle n'a aucune action sur l'albumine, la fibrine et le gluten.

Elle n'intervertit pas d'une façon appréciable le sucre de canne, mais forme dans la solution de l'acide lactique.

Elle transforme partiellement le glucose en acide lactique.

Elle fluidifie lentement l'empois d'amidon, mais ne forme que des quantités inappréciables de glucose.

Dans les milieux alimentaires ensemencés à l'abri de l'air, la sarcine se développe très mal et ne produit aucune transformation, même au bout d'un temps très long.

BACILLUS PYOCYANEUS.

Lait. — Le lait se caille au bout de quinze à vingt heures ; le coagulum est mou, blanchâtre, gélatiniforme. Le liquide dans lequel il baigne est jaune verdâtre et légèrement trouble. Le lait a conservé sa réaction amphotère. Bientôt le coagulum commence à se dissoudre ; il se fragmente, et les débris en sont peu à peu liquéfiés. Au bout de qurante-huit heures, le liquide, louche, jaunâtre, tient en suspension des grumeaux de caséine. Avec le temps, la coloration se fonce, la réaction devient faiblement acide. Cet état persiste pendant trois ou quatre jours, durant lesquels la dissolution du restant de la caséine solide se poursuit lentement. Le liquide présente alors toutes les réactions des peptones. Au bout de sept à huit jours, sa réaction devient faiblement alcaline. L'odeur, qui au début était légèrement putride, devient un peu ammoniacale, avec un faible relent de vieux fromage.

Au fond du ballon se trouve un léger dépôt de phosphate tricalcique. Le liquide renferme des peptones en petite quantité, de la leucine, de la tyrosine, du carbonate, du valérianate et probablement du butyrate d'ammoniaque.

Dans le lait additionné de craie, la dissolution de la caséine précipitée se fait plus rapidement. On constate la présence des

peptones, de la leucine, de la tyrosine et de composés ammoniacaux.

Dans le lait contenu dans des tubes privés d'air, la coagulation puis la dissolution du caillot formé se produisent, mais avec plus de lenteur, surtout la dissolution. Examiné au bout de sept à huit jours, le liquide exhale une odeur désagréable. Il contient des peptones, de la leucine, de la tyrosine, un peu de butyrate d'ammoniaque (?). Au début, on peut constater une faible production de gaz.

Lactose. — Ce microbe se développe bien dans la solution de lactose. Il la trouble au bout de vingt-quatre heures, en lui donnant une coloration jaune verdâtre et en y formant des flocons grisâtres. La réaction, à ce moment, est très faiblement acide. Au bout de quarante-huit heures, le liquide rougit faiblement, mais nettement, le papier de tournesol. L'analyse y décèle une faible quantité d'acide lactique et une quantité encore considérable de lactose, réduisant énergiquement la liqueur cupro-potassique. Même après un séjour de longue durée à l'étuve, il reste une quantité assez notable de lactose non transformé.

Dans la solution de lactose additionnée de craie, la réaction n'est pas acide au bout de quarante-huit heures. Elle le devient légèrement les jours suivants, mais jamais aussi franchement que dans le lactose pur. De plus, la quantité de lactose intact est moins considérable. Au bout de huit à dix jours, le liquide ne réduit plus la liqueur de Fehling d'une façon appréciable.

En l'absence d'oxygène, il y a une formation d'acide lactique mais plus lente ; de plus, l'analyse décèle une faible quantité d'alcool.

Caséine. — Le liquide dans lequel la caséine est en suspension est très trouble au bout de vingt-quatre heures. La coloration est jaune verdâtre. Les fragments de caséine sont encore

à peu près intacts. L'odeur est légèrement putride. Au bout de quarante-huit heures, le trouble persiste. La caséine est rongée et se délite facilement. Vers le cinquième ou sixième jour, la dissolution de la caséine est avancée. Le liquide est toujours trouble et exhale une odeur légèrement ammoniacale vers le huitième ou dixième jour. C'est qu'en effet il contient, outre les peptones, de la leucine et de la tyrosine et des composés ammoniacaux. La dissolution de la caséine se fait plus lentement que dans le lait, alors même que le liquide est additionné de craie.

Albumine. — Au bout de vingt-quatre heures, le liquide est très trouble, légèrement verdâtre et exhale une odeur putride assez accentuée. Les cubes d'albumine sont gonflés et leurs bords sont transparents. Au bout de quarante-huit heures, les fragments d'albumine se délitent facilement. Au troisième jour, le liquide est toujours trouble. Sa coloration est devenue jaunâtre. La dissolution se poursuit activement. Le lendemain, les trois quarts de l'albumine solide ont disparu. Il existe au fond du ballon un précipité blanchâtre et, au-dessus, une couche nuageuse d'albumine à peu près transformée. Le liquide se clarifie alors et sa couleur devient jaune brunâtre. Au cinquième jour, presque toute l'albumine solide a disparu ; le peu qui en reste forme un précipité grisâtre au fond du ballon. On trouve dans ce liquide, au bout de huit jours, de la leucine, de la tyrosine, du carbonate et du valérianate d'ammoniaque.

Dans un ballon contenant de la craie, la dissolution est un peu plus rapide.

A l'abri de l'air, il y a production de gaz ; les cubes d'albumine sont gonflés et deviennent transparents au bout de vingt-quatre heures. Cet état persiste jusqu'au quatrième jour. A ce moment, l'albumine gonflée se dissout peu à peu. La dissolution se fait plus lentement qu'à l'air libre. La réaction est neutre. Le liquide, au bout de cinq ou six jours, contient de la leucine, de

la tyrosine et un peu de butyrate d'ammoniaque. L'odeur est très désagréable.

Fibrine. — Au bout de vingt-quatre heures, le liquide est trouble et présente une coloration jaunâtre. A la surface flotte une pellicule grisâtre. Les filaments de fibrine, au bout de quarante-huit heures, sont gonflés ; puis ils se délitent et les détritus s'accumulent au fond du ballon et sont dissous lentement. Vers le troisième ou quatrième jour, le liquide s'éclaircit un peu. Les couches en contact avec la fibrine restée solide sont toujours très troubles. A partir de ce moment, la dissolution marche avec une excessive lenteur. La réaction du liquide finit par devenir un peu alcaline ; il exhale une odeur légèrement ammoniacale.

Même effet dans les ballons contenant de la craie.

A l'abri de l'air, léger développement de gaz, attaque plus faible et dissolution plus lente de la fibrine.

Gluten.—A la vingt-quatrième heure, le liquide est trouble. A sa surface on voit une pellicule grise. Les granules de gluten sont gonflés, les couches supérieures dissoutes. Au bout de quarante-huit heures, la dissolution est plus avancée. Elle se poursuit, en se ralentissant, jusqu'au dixième jour. A ce moment, il reste encore une assez grande quantité de gluten non dissous. La réaction devient alcaline. Il y a formation en effet de composés ammoniacaux.

Même effet dans les ballons contenant de la craie.

A l'abri de l'air, attaque avec dégagement de gaz, dissolution faible et très lente.

Sucre de canne.—Développement luxuriant au bout de vingt-quatre heures. Le liquide est très trouble et sa couleur est verdâtre. La réaction est assez nettement acide. Neutralisée et filtrée, la solution réduit énergiquement le réactif cupro-

potassique. Au bout de quarante-huit heures, le liquide neutralisé et distillé indique la présence d'une faible quantité d'alcool.

La réaction acide est due à de l'acide lactique et à de l'acide acétique, ce dernier en proportion supérieure.

Dans le liquide additionné de craie, la réaction acide est moins prononcée au bout de vingt-quatre heures. Neutralisé, le liquide réduit énergiquement la liqueur de Fehling. Les jours suivants, cette réduction est de plus en plus faible. Le glucose formé disparaît peu à peu, pour se transformer en acides lactique et acétique.

Glucose.— Le Bacillus pyocyaneus se développe bien dans la solution de glucose, qu'il trouble fortement au bout de vingt-quatre heures. La réaction est franchement acide. Neutralisé, le liquide réduit encore énergiquement la liqueur cupro-potassique. Cette réduction se produit encore au bout de dix à douze jours. Neutralisé et distillé au bout de quarante-huit heures, le liquide donne une quantité notable d'alcool. Distillé en présence de l'acide sulfurique, il fournit de l'acide acétique.

Avec la craie, réduction plus faible de la liqueur de Fehling au bout de vingt-quatre heures. Réaction légèrement acide. Quantités plus faibles d'alcool ; plus considérables d'acide acétique en partie libre, en partie combiné à la chaux. Au troisième jour, réduction très faible de la liqueur cupro-potassique. Au bout de cinq ou six jours, on ne trouve plus de glucose.

A l'abri de l'air, développement de gaz. Réaction franchement acide au bout de vingt-quatre heures; alcool, acide acétique et acide butyrique (?).

Amidon.— Au bout de vingt-quatre heures, l'empois subit un commencement de fluidification. Sa couleur est verdâtre. A sa surface flotte une pellicule grise ; nuages grisâtres ; le liquide filtre encore difficilement, le filtratum est faiblement acide ; neutralisé, il ne réduit pas la liqueur de Fehling d'une façon

appréciable. Odeur fade désagréable. Au bout de quarante-huit heures, réduction très faible de la liqueur de Fehling.

La proportion de sucre reste toujours très faible, malgré la durée du séjour à l'étuve. Traité par l'alcool, l'acide sulfurique et chauffé, le liquide exhale une odeur d'ananas (A. butyrique ; butyrate d'éthyle). Avec la craie, pas de modifications.

A l'abri de l'air, dégagement de gaz au bout de vingt-quatre heures. Au bout de quarante-huit heures, pas de réduction appréciable du réactif cupro-potassique ; odeur d'acide butyrique : cet acide se trouve en effet dans le liquide.

Conclusion.— En résumé, le Bacillus pyocyaneus coagule le lait et redissout le coagulum;

Il transforme lentement le lactose en acide lactique ;

Il peptonifie assez rapidement l'albumine ;

Il dissout beaucoup moins rapidement et moins complètement la fibrine ;

Il dissout partiellement le gluten ;

Intervertit rapidement et énergiquement le sucre de canne ;

Transforme le glucose en alcool ;

Saccharifie très faiblement l'empois d'amidon.

J'ai essayé d'isoler les diastases qui doivent intervenir dans plusieurs de ces transformations. Je n'ai pu réussir d'une façon satisfaisante et nette que pour le sucre de canne. Au bout de quatre ou cinq jours, ce liquide, filtré, neutralisé et traité par un grand excès d'alcool, donne un dépôt blanchâtre qui se dissout dans l'eau. La solution, filtrée à travers un filtre Chamberland, intervertit rapidement son poids de solution de sucre.

On remarquera que dans les solutions additionnées de craie on arrive rapidement aux produits ultimes de l'action des microbes. Les produits intermédiaires n'ont qu'une existence éphémère. Cela provient évidemment de ce que la craie neutralise, dans une certaine mesure, les acides qui se forment et dont l'ac-

cumulation par conséquent ne gêne pas l'action des bactéries. C'est un fait qu'on aura l'occasion d'observer pour tous les micro-organismes.

BACTERIUM LACTIS ÆROGENES.

Lait. — Ensemencé dans du lait, ce micro-organisme le coagule au bout de quinze à vingt heures. Le caillot est volumineux, homogène, blanc. Au-dessus se trouve une mince couche de liquide louche et gris jaunâtre. La réaction de ce liquide est fortement acide. Le jour suivant, le coagulum se rétracte ; la quantité de liquide ambiant augmente, mais ce liquide présente le même aspect que précédemment. La rétraction du caillot continue les jours qui suivent. La caséine forme un gâteau dur et compact à face supérieure excavée. Le liquide qui le baigne s'éclaircit peu à peu, en laissant déposer les grumeaux qu'il tenait en suspension ; la réaction reste très acide. Au bout de quarante-huit heures, la liqueur de Fehling est encore réduite. On constate la présence d'une grande quantité d'acide lactique.

Dans le lait additionné de craie, la coagulation se produit au bout de vingt-quatre heures environ, mais le coagulum ne présente pas l'homogénéité de celui qui se forme dans le lait pur: tantôt il est fragmenté, tantôt il présente des boursouflures, des fissures dues au dégagement de gaz acide carbonique provenant de la décomposition du carbonate de chaux par l'acide lactique qui se forme, et dont la proportion est très considérable. Au bout de huit jours, le liquide, filtré et neutralisé, ne réduit plus la liqueur cupro-potassique. Dans le lait mis à l'abri de l'air, la coagulation se fait plus lentement, au bout de trente-six à quarante-huit heures environ. Il y a un léger dégagement de gaz, plus abondant quand le lait est additionné de craie.

Lactose. — Au bout de douze heures, le liquide est trouble ; il se produit un dégagement de gaz. La solution rougit déjà for-

tement le papier bleu de tournesol. Au bout de vingt-quatre heures, l'acidité augmente, le liquide contient une forte proportion d'acide lactique, mais aussi un peu de lactose intact qui réduit encore la liqueur de Fehling. Quand on a ajouté de la craie à la solution de lactose, le dégagement de gaz est plus abondant. La réaction est pourtant nettement acide. Peu à peu le dégagement gazeux diminue, au fur et à mesure que la craie disparaît. Au bout de trois jours, le liquide ne réduit plus la liqueur de Fehling. Le lactate de chaux formé finit par former à la surface du liquide une mince croûte cristalline.

A l'abri de l'air, il se manifeste une action fermentatrice assez intense. Le dégagement gazeux est très considérable quand le liquide a été additionné de craie. Il se forme de l'acide lactique et un peu d'alcool.

Caséine. — Au bout de douze heures, le liquide est très trouble, il y a un très léger développement de gaz. La réaction du liquide est un peu acide.

Les fragments de caséine sont intacts. Les jours suivants, la caséine reste inattaquée, que le bouillon soit ou non additionné de craie. La dissolution de la caséine ne se fait d'ailleurs pas non plus dans le lait.

Albumine. — L'albumine n'est pas dissoute.

Fibrine. — La fibrine non plus, elle est seulement un peu gonflée.

Gluten. — Au bout de vingt-quatre heures, le bouillon est trouble ; les granules de gluten semblent gonflés ; les couches supérieures paraissent avoir subi un commencement de désagrégation; cependant, à l'analyse, on ne trouve pas des quantités appréciables de peptones. — La réaction du liquide est un peu acide.

Glucose. — Au bout de douze heures, la solution est forte-

ment troublée et la réaction est franchement acide. Le liquide exhale une odeur à la fois aigrelette et aromatique. Il renferme déjà une assez grande quantité d'acide lactique et un peu d'acide acétique, en même temps qu'un peu d'alcool. Au bout de vingt-quatre heures, la proportion d'acides augmente, mais il reste encore assez de glucose pour réduire nettement la liqueur de Fehling. Avec la craie, il y a développement de gaz. La réaction est acide. On trouve une proportion plus faible de glucose et d'alcool au bout de douze heures. Le glucose disparaît complètement au bout de trois jours.

Ensemencé dans une solution de glucose à l'abri de l'air, ce microbe la trouble fortement au bout de vingt-quatre heures et détermine un dégagement de gaz assez abondant. Outre l'acide lactique et acétique, le liquide renferme de l'alcool.

Sucre de canne. — Solution très trouble, au bout de vingt-quatre heures ; léger dégagement gazeux ; réaction fortement acide. Le liquide, neutralisé et traité par la liqueur cupro-potassique, ne la réduit pas d'une façon appréciable. La distillation indique des traces d'alcool. On trouve une grande quantité d'acide lactique.

Dans la solution additionnée de craie, la réaction est plus faiblement acide au début. A la distillation, on ne trouve pas d'alcool. A l'abri de l'air, le liquide donne, au bout de vingt-quatre heures, de l'acide lactique et un peu d'alcool.

Amidon. — Ensemencé dans l'empois d'amidon, le Bacterium lactis ærogenes le fluidifie en partie au bout de douze à quinze heures. Au fond du ballon se trouve un abondant précipité blanchâtre ; réaction légèrement acide. Neutralisé, le liquide réduit faiblement la liqueur de Fehling. Cette réduction s'accentue un peu, mais très faiblement les jours suivants.

Dans l'empois additionné de craie, cette réduction ne se produit pas; la réaction est faiblement acide.

A l'abri de l'air, il y a développement de gaz, fluidification partielle et formation d'une forte proportion d'acide lactique. Réduction très faible de la liqueur cupro-potassique.

Conclusion. — Ce micro-organisme coagule le lait en transformant le lactose en acide lactique : cette transformation est rapide et énergique. Il ne dissout pas la caséine, l'albumine, la fibrine et le gluten ; fait fermenter le glucose en donnant un peu d'alcool, de l'acide lactique et de l'acide acétique ; ne donne pas lieu à une interversion marquée du sucre de canne. Il se développe bien aux dépens de l'empois d'amidon, qu'il fluidifie partiellement, en formant un peu de glucose et surtout de l'acide lactique.

BACILLUS SUBTILIS.

Lait. — Quand on ensemence ce bacille dans du lait, ce liquide ne paraît avoir subi aucun changement au bout de vingt-quatre heures ; au bout de quarante-huit heures, le lait présente le même aspect. Peu à peu, il prend une teinte jaunâtre foncé, *café au lait*, mais sans rien perdre de son homogénéité. C'est le seul changement qui se produise, pour si longtemps qu'on laisse le lait dans l'étuve. Vignal a le premier signalé ce fait. La réaction est toujours amphotère. Si l'on ajoute à ce liquide une faible quantité d'un acide minéral ou d'acide acétique, il se produit un léger précipité blanchâtre. Les mêmes phénomènes se passent dans le lait additionné de craie. Il est probable que nous avons affaire à une transformation de la matière albuminoïde, marquant une transition entre la substance albuminoïde initiale et son premier stade de transformation connu : les peptones.

A l'abri de l'air, comme on l'a vu, le microbe ne se développe pas.

Lactose. — Dans la solution de lactose, additionnée ou non de

craie, le Bacillus subtilis se développe bien, en troublant légèrement le liquide et en formant à sa surface une membrane blanc grisâtre. Le liquide ne présente pas de réaction acide. On ne trouve pas de trace d'acide lactique.

Caséine. — Ensemencé dans du bouillon faible contenant de la caséine, le Bacillus subtilis produit un trouble léger au bout de vingt-quatre heures ; les fragments de caséine se délitent et forment au fond du ballon un dépôt blanchâtre finement granuleux.

Albumine. — L'albumine ne paraît pas attaquée au début ; le bouillon louchit légèrement au bout de vingt-quatre heures. On voit à sa surface une fine membrane blanchâtre. Au bout de quarante-huit heures, cette membrane s'est épaissie. Le liquide se trouble davantage ; il n'exhale pas de mauvaise odeur. Pendant les huit premiers jours, l'albumine reste intacte. Vers le huitième jour, elle se gonfle et les fragments deviennent transparents sur les bords. Ils deviennent complètement transparents vers le quinzième jour et en même temps très friables. Le liquide, analysé à ce moment, donne les réactions des peptones, et renferme en outre de la leucine, de la tyrosine et des composés ammoniacaux.

Fibrine. — L'attaque de la fibrine se produit également très lentement. Ce n'est qu'au bout de sept à huit jours que les filaments se gonflent et s'éclaircissent un peu. Le bouillon se trouble au bout de trois jours environ. On trouve dans le liquide, dont la réaction devient à la fin un peu alcaline, les mêmes matières extractives et les mêmes composés ammoniacaux que dans le bouillon qui contient l'albumine.

Gluten. — La dissolution du gluten se fait lentement aussi. Ce sont les couches supérieures qui commencent à se désagréger. La dissolution gagne de haut en bas ; le liquide devient en même temps très trouble. Au bout de quinze à vingt jours, la dissolution du gluten est à peu près complète.

Sucre de canne. — Dans la solution de sucre de canne, on observe un développement luxuriant dès la vingt-quatrième heure. Le Bacillus subtilis trouble le liquide et forme à la surface une membrane grisâtre finement plissée. La réaction est assez nettement acide. Au bout de quarante-huit heures, le liquide neutralisé réduit la liqueur cupro-potassique. Distillé, il donne une faible quantité d'alcool. L'acidité du liquide est due à de l'acide acétique. Cette acidité va d'ailleurs en s'accentuant jusqu'au douzième ou quinzième jour ; alors elle atteint son maximum.

Dans la solution additionnée de craie, l'acidité est plus faible. Il se forme du glucose, de l'alcool et de l'acidité acétique, en partie libre, en partie à l'état d'acétate de calcium.

Glucose. — Au bout de vingt-quatre heures, le liquide louchit; une membrane superficielle se forme. La réaction, légèrement acide, va en s'accentuant. Neutralisé, le liquide réduit encore énergiquement la liqueur de Fehling. Distillé, il n'indique pas l'existence d'alcool. Au troisième ou quatrième jour, on en trouve une certaine quantité. On trouve aussi de l'acide acétique. Jamais la quantité d'alcool n'est considérable.

Amidon. — Le Bacillus subtilis se développe bien aux dépens de l'empois d'amidon, ou plutôt aux dépens des éléments azotés du bouillon faible ; mais, que l'empois soit ou non additionné de craie, il ne le transforme pas en glucose.

Conclusion. — Comme on le voit, même en admettant que le Bacillus subtilis se développe dans l'intestin, ce qui n'est pas très-probable, il n'est qu'un agent de digestion peu important. Les transformations qu'il fait subir aux substances alimentaires sont peu énergiques et surtout longues à se produire.

Il n'exerce une action assez rapide et assez marquée que sur le sucre de canne et, à la rigueur, sur le glucose. Vandervelde a

prétendu que le Bacillus subtilis pouvait produire une fermentation quand il vivait à l'abri de l'oxygène. Il a essayé de démontrer ce fait par une analyse exacte des liquides dans lesquels le microbe avait vécu pendant très longtemps. Il a trouvé de petites quantités de glycérine, d'acide lactique, d'acides gras volatils, d'acide carbonique et d'hydrogène. Mais ces substances étaient en quantité si faible et se formaient après un temps si long (un ou deux mois), qu'il ne peut être question de fermentation proprement dite. En outre, il n'y avait aucune garantie de la pureté des cultures, et, en définitive, ces recherches ne peuvent être invoquées comme une preuve rigoureuse que le Bacillus subtilis provoque une fermentation.

BACILLUS MYCOÏDES.

Lait.— Au bout de douze heures, le lait perd son aspect homogène. Les couches supérieures du liquide sont colorées en jaune brun et sont semi-transparentes. Au bout de vingt-quatre heures, cette coloration brunâtre gagne la profondeur du liquide. Au bout de quarante-huit heures, le lait est transformé en un liquide jaune brunâtre, opalescent et même transparent dans les couches supérieures. Au fond du ballon se trouve un précipité granuleux blanchâtre. La réaction est légèrement acide. Au troisième jour, la dissolution de la caséine est très avancée. Le liquide, dans ses couches supérieures, est brunâtre et limpide. Au fond du ballon se trouve un précipité blanchâtre. On trouve à ce moment une assez grande quantité de peptones. La réaction acide va diminuant, et le liquide, au bout d'une dizaine de jours, devient même faiblement alcalin. Il contient alors de la tyrosine, de la leucine, du carbonate, du valérianate et du butyrate d'ammoniaque (?). Il exhale l'odeur d'une croûte de fromage de Brie.

Dans le lait additionné de craie, les transformations sont à

peu près les mêmes ; le liquide seulement n'est pas aussi limpide. On trouve, au bout de dix jours, une certaine quantité d'ammoniaque. Ensemencé dans du lait à l'abri de l'air, le Bacillus mycoïdes précipite la caséine sous forme de grumeaux qui se dissolvent lentement. Il y a, au début, un développement gazeux assez marqué et l'odeur est beaucoup plus désagréable que dans les cultures faites en présence de l'air. On constate l'existence (au bout de huit à dix jours) de la leucine, de la tyrosine et d'une petite quantité d'un sel d'ammoniaque qui me paraît être le butyrate d'ammoniaque.

Lactose. — Au bout de vingt-quatre heures, la solution est légèrement troublée, sa réaction est légèrement acide. Au bout de quarante-huit heures, l'acidité augmente un peu. Le réactif d'Uffelmann indique alors la présence d'une petite quantité d'acide lactique en solution. Au bout de trois ou quatre jours, l'acidité augmente encore parallèlement à la quantité d'acide lactique. Néanmoins, à ce moment, la liqueur de Fehling est réduite encore nettement.

La solution de lactose additionnée de craie se trouble au bout de vingt-quatre heures. Sa réaction est faiblement acide. Au bout de quarante-huit heures, le liquide réduit encore la liqueur cupro-potassique. L'acidité augmente encore les jours suivants, malgré la présence du carbonate de chaux, qui paraît attaqué. Au bout de cinq à six jours, le liquide réduit assez faiblement la liqueur de Fehling. Dans une solution de lactose additionnée de craie et privée d'air, il se produit un dégagement de gaz. La réaction du liquide est acide. Il renferme, en effet, une assez forte proportion d'acide lactique.

Caséine. — Au bout de vingt-quatre heures, les fragments de caséine sont gonflés ; le liquide est très trouble; sa réaction est assez nettement acide. Au bout de quarante-huit heures, les fragments de caséine rongés se délitent et forment un dépôt

granuleux. Au troisième jour, le liquide est toujours très trouble, la quantité de caséine solide a beaucoup diminué. Avec le temps, la réaction du milieu devient faiblement alcaline. Le liquide contient du butyrate d'ammoniaque au dixième ou douzième jour. Quand on a ajouté de la craie, la dissolution de la caséine se fait plus rapidement, mais toujours plus lentement que dans le lait. A l'abri de l'air, la dissolution est très lente.

Albumine.— Au bout de vingt-quatre heures, les fragments d'albumine sont gonflés, mais ils conservent leur forme. Au bout de quarante-huit heures, ils sont plus friables. Le liquide est très trouble et exhale une odeur désagréable. Au troisième jour, les débris des cubes d'albumine forment au fond du ballon un dépôt finement granuleux grisâtre. Au cinquième jour, il y a encore un résidu solide assez abondant dans le ballon. La réaction du liquide, neutre au début, finit par devenir légèrement alcaline, à cause de la formation de composés ammoniacaux. L'action sur l'albumine, à l'abri de l'air, se manifeste par un dégagement de gaz assez marqué ; le liquide se trouble, l'albumine se gonfle, mais, même au bout de dix jours, les quantités d'albumine dissoute sont très faibles. Quand on ouvre le ballon, on perçoit un mélange d'odeurs assez franchement putrides, parmi lesquelles domine celle de l'hydrogène sulfuré.

Fibrine.— Le bouillon est louche au bout de vingt-quatre heures. La fibrine est légèrement gonflée. Au bout de quarante-huit heures, le bouillon est un peu trouble. On y voit flotter des débris de membrane pêle-mêle avec des détritus de fibrine. Celle-ci en effet est rongée, délitée. Les débris s'accumulent au fond du ballon. L'attaque se ralentit et cesse même complètement au bout d'une quinzaine de jours.

A ce moment, il reste encore une assez grande quantité de fibrine non dissoute. Au troisième jour, le bouillon contient une faible proportion de peptones. Au bout de huit à dix jours, on

trouve en assez grande quantité les produits habituels de la vie des microbes: leucine : *tyrosine* (en forte proportion) et composés ammoniacaux qui rendent le liquide faiblement alcalin.

A l'abri de l'air, l'attaque se fait avec dégagement de gaz, mais la dissolution de la fibrine est lente et incomplète.

Gluten. — Au bout de vingt-quatre heures, le liquide est trouble; le gluten est fortement gonflé. Au bout de quarante-huit heures, les couches supérieures sont dissoutes et produisent dans le liquide un trouble nuageux jaunâtre. Au troisième jour, la dissolution se poursuit activement; elle est complète vers le sixième ou le septième jour. Le liquide est alors très trouble : un léger dépôt jaunâtre se fait au fond du ballon. La réaction est très faiblement alcaline.

Sucre de canne. — Au bout de vingt-quatre heures, le liquide est louche et tient en suspension des grumeaux blanchâtres. La réaction est acide. Au bout de quarante-huit heures, l'acidité augmente. Quand on neutralise à ce moment le liquide et qu'on le traite par le réactif cupro-potassique, le mélange prend (à la chaleur) une coloration pourprée; mais il n'y a pas précipitation d'oxyde cuivreux. Il n'y a donc d'intervertie qu'une quantité de sucre extrêmement faible. La réaction acide est due à de l'acide lactique.

A l'abri de l'air, il se forme une assez grande quantité d'acide lactique.

Glucose. — A la vingt-quatrième heure, le développement est luxuriant, le trouble est considérable, la réaction nettement acide. Neutralisé, le liquide réduit encore énergiquement la liqueur cupro-potassique. Au bout de quarante-huit heures, il reste encore une assez grande quantité de glucose non transformé. Neutralisé et distillé, le liquide donne une assez grande quantité d'alcool. Il contient aussi de l'acide acétique. Dans la solution de glucose additionnée de craie, l'acidité est plus faible. Au bout

de quarante-huit heures, la réduction de la liqueur de Fehling est bien moins énergique, et au cinquième ou sixième jour presque tout le glucose a été transformé en alcool et en acide acétique.

Amidon. — Au bout de douze heures, l'empois d'amidon est fluidifié presque en totalité. Il s'est transformé en un liquide transparent, au fond duquel se trouve un dépôt floconneux blanchâtre. La réaction est légèrement acide. Neutralisé et traité par le réactif cupro-potassique, le liquide le réduit *énergiquement*. La quantité de glucose qui se forme atteint son maximum au bout de vingt-quatre heures. Les jours suivants, cette quantité diminue peu à peu. L'acide qui se forme est de l'acide acétique. On trouve à un certain moment un peu d'alcool.

Quand l'empois est additionné de craie, la fluidification se produit également en douze heures. Le liquide renferme à ce moment une grande quantité de glucose. La réaction est légèrement acide. Au bout de vingt-quatre heures, la quantité de glucose diminue pour faire place à de l'alcool et à de l'acide acétique. Au cinquième et au sixième jour, la liqueur de Fehling ne subit pas de réduction sensible.

Dans des ballons privés d'air, il se produit un léger développement de gaz et une fluidification incomplète de l'empois. Au bout de quarante-huit heures, le milieu exhale une odeur assez nette d'acide butyrique. On y trouve en effet à ce moment un peu de glucose, d'alcool, de l'acide acétique et de l'acide butyrique.

Cette saccharification rapide de l'amidon indique que ce microbe doit sécréter assez abondamment une amylase très active. En effet, le liquide, au cinquième jour, filtré à travers une bougie Chamberland, saccharifie son volume d'empois d'amidon en trois ou quatre heures à 40°.

Conclusion. — En résumé, le Bacillus mycoïdes dissout la

caséine du lait assez rapidement, sans coagulation préalable apparente. Il transforme à peu près complètement une solution de lactose en acide lactique. Il dissout lentement et incomplètement l'albumine, bien que l'attaque soit assez énergique au début ;

Il dissout incomplètement la fibrine ;

Il dissout complètement le gluten ;

Il intervertit très faiblement le sucre de canne ;

Il transforme partiellement le glucose en alcool ;

Il saccharifie rapidement et complètement l'empois d'amidon.

Cette dernière action et la peptonification de la caséine du lait constituent les deux caractères essentiels de ce micro-organisme.

Coccus A.

Lait. — Le coccus A, ensemencé dans du lait, n'y produit aucun changement au bout de vingt-quatre heures. Au deuxième jour, le lait garde encore son aspect normal. A la fin du troisième jour ou au commencement du quatrième, le lait se prend en masse. Au-dessus du coagulum, on voit une mince couche de liquide légèrement jaunâtre et limpide. Le coagulum est blanc et assez mou. La réaction du milieu est à ce moment franchement acide. Cette réaction est due à de l'acide lactique qui se forme en assez grande quantité aux dépens du lactose. Néanmoins tout le sucre de lait n'est pas transformé, car le liquide qui baigne le caillot réduit encore, après neutralisation, la liqueur de Fehling. A partir du quatrième jour, le lait ne présente plus de modifications.

Quand le lait est additionné de craie, la coagulation est un peu retardée. Le caillot offre moins de consistance. La réaction, faiblement acide au début, le devient davantage avec le temps. L'acide lactique formé se trouve en partie libre, en partie

combiné avec la chaux du carbonate. Au bout de sept à huit jours, la plus grande partie du lactose est transformée en acide lactique.

Lactose. — Le coccus A se développe assez bien dans la solution de lactose. Au bout de vingt-quatre heures, le liquide est légèrement louche, on y voit quelques petits grumeaux et des flocons grisâtres légers.

Au fond du ballon se trouve un précipité blanchâtre. La réaction est légèrement acide au début, mais au bout de quarante-huit heures, le liquide rougit nettement le papier bleu de tournesol. Neutralisé, il réduit encore nettement la liqueur cupro-potassique.

Dans la solution de lactose additionnée de craie, la réaction devient également acide. Peu à peu tout le lactose disparaît et est remplacé par de l'acide lactique.

Caséine. — Que le bouillon soit additionné ou non de carbonate de chaux, le coccus A ne dissout pas la caséine. Elle reste absolument intacte.

Albumine. — Au bout de vingt-quatre heures, pas de changement. Au bout de quarante-huit heures, le bouillon louchit, l'albumine est légèrement gonflée, mais c'est la seule modification qu'elle subisse.

Fibrine. — Au contraire, la fibrine est vivement attaquée ; au bout de trente-six heures, les filaments sont gonflés et déjà fortement rongés. Le liquide est trouble, surtout dans ses couches inférieures. La fibrine dissoute rend le liquide plus dense et nuageux. La réaction est neutre. Au bout de quarante-huit heures, une bonne moitié de la fibrine est dissoute. La dissolution est complète au bout de sept à huit jours ; le liquide est trouble et un léger dépôt se trouve au fond du ballon.

Analysé au bout de quarante-huit heures, le liquide tient en

dissolution une assez grande quantité de peptones. La proportion de peptones diminue avec le temps. En revanche, on trouve plus de tyrosine, de leucine. La réaction alcaline du liquide, au bout de sept ou huit jours, est due à la présence d'ammoniaque combinée avec l'acide carbonique et l'acide valérique. Le liquide exhale d'ailleurs une odeur ammoniacale assez prononcée.

Gluten. — Ce micro-organisme dissout lentement le gluten, en troublant d'abord légèrement le bouillon. Le trouble s'accentue au bout de quarante-huit heures et persiste encore au douzième jour. Au fond du ballon on voit un dépôt jaunâtre très abondant.

Glucose.—Au bout de vingt-quatre heures, la solution se trouble faiblement ; la réaction est déjà nettement acide. La solution neutralisée réduit très énergiquement la liqueur de Fehling. Il existe donc encore une grande quantité de glucose intact. Au bout de quarante-huit heures, réaction toujours acide ; trouble léger persistant. Si l'on neutralise à ce moment et qu'on distille, on obtient des traces d'alcool. L'acidité du liquide est due à un mélange d'acide acétique et d'acide lactique.

Dans la solution de glucose additionnée de craie, le développement se fait également bien. Seulement la quantité de glucose intact diminue rapidement, pour faire place à de l'acide lactique, à de l'alcool, en très faible quantité, et à de l'acide acétique.

Sucre de canne.— Au bout de vingt-quatre heures, la solution se trouble légèrement. La réaction est assez franchement acide. Au bout de quarante-huit heures, le trouble est plus marqué. Neutralisée, la solution ne réduit pas la liqueur cupropotassique; au bout de trois ou six jours, il n'y a pas davantage d'interversion. La solution additionnée de craie n'est pas non plus intervertie.

Amidon. — Le premier jour, il se produit une très légère

fluidification des couches supérieures de l'empois. Le milieu exhale une odeur aigre piquante. A la surface, on voit une mince pellicule grise. Au bout de quarante-huit heures, la fluidification est un peu plus marquée. La réaction est légèrement acide. L'empois filtre difficilement à travers le papier. Le filtratum, neutralisé et mélangé en excès à de la liqueur de Fehling, ne la réduit pas d'une façon appréciable. Au bout de trois jours, la réduction est très faible ; un précipité verdâtre se forme au bout d'un certain temps dans le tube à essai.

Conclusion.—Le coccus A coagule le lait au bout d'un temps assez long, grâce à l'acide lactique qu'il forme aux dépens du lactose ;

Il transforme le lactose d'une solution en acide lactique ;

Il ne dissout pas la caséine et l'albumine ;

Il attaque au contraire énergiquement et dissout assez rapidement la fibrine;

Il dissout lentement le gluten ;

Il n'intervertit pas le sucre de canne ;

Donne de faibles quantités d'alcool aux dépens du glucose en solution ;

Forme des traces de glucose dans l'empois d'amidon.

Bacille B.

Lait.— Le bacille B coagule le lait au bout de douze à quinze heures. Le coagulum est blanc et ferme ; au-dessus se trouve une mince couche de liquide trouble ; ce liquide a une réaction acide. Au bout de trente-six heures, le caillot se rétracte; le liquide est toujours trouble. Le caillot continue à se rétracter les jours suivants et finit par former un gâteau concret à face supérieure légèrement excavée. Le liquide dans lequel il est plongé est toujours trouble, grisâtre, et rougit fortement le papier bleu de

tournesol. La culture exhale une odeur aigrelette. La caséine coagulée n'est jamais redissoute. Quand le lait est additionné de craie, il se coagule au bout de quinze heures en moyenne. Le liquide rougit nettement le papier réactif. Au bout de quarante-huit heures, on trouve une forte proportion d'acide lactique. Le coagulum est moins dur que dans le lait pur et la rétraction en est plus lente.

Dans du lait privé d'air, la coagulation se produit un peu plus tard et présente les mêmes caractères. Je n'ai pas observé de dégagement gazeux.

Lactose. — Dans la solution de lactose, au bout de douze heures, le développement est très luxuriant ; le liquide est très trouble. On peut observer un dégagement de gaz. La réaction est déjà nettement acide. Au bout de vingt-quatre heures, l'acidité est très prononcée, le dégagement de gaz a presque cessé. Au bout de quarante-huit heures, forte acidité. Cependant le liquide réduit encore nettement la liqueur cupro-potassique. On trouve une grande quantité d'acide lactique.

Dans la solution additionnée de craie, le dégagement de gaz est plus considérable. Le liquide, au bout de douze heures, est très trouble et rougit nettement le papier bleu de tournesol. Au bout de vingt-quatre heures, on voit que le carbonate de chaux est attaqué et décomposé. Le gaz qui se dégage est de l'acide carbonique. La réaction est nettement acide. On trouve en effet une assez grande quantité d'acide lactique, soit libre, soit combiné à la chaux. Au bout de cinq ou six jours, le liquide, neutralisé, ne réduit plus la liqueur de Fehling. Tout le lactose a donc disparu.

Dans des ballons privés d'air, le bacille B attaque le lactose en produisant un dégagement de gaz, dégagement qui est très abondant quand la solution est additionnée de craie. Le lactose disparaît assez rapidement et est transformé en acide lactique.

Peut-être une partie du sucre de lait subit-elle la fermentation alcoolique ; mais je n'ose l'affirmer, car, bien qu'ayant observé à la distillation les stries caractéristiques, je n'ai pourtant pas obtenu la réaction de l'iodoforme.

Caséine. — Le bacile B ne dissout pas la caséine, il la gonfle seulement un peu. Le bouillon se trouble fortement, il exhale une odeur fétide.

Albumine. — Le bouillon est également très trouble au bout de vingt-quatre heures. Son odeur est fétide. Mais les fragments d'albumine ne sont pas attaqués.

Dans des ballons privés d'air, l'albumine se gonfle et il y a un léger dégagement de gaz ; mais l'attaque se borne là.

Fibrine. — La fibrine est gonflée légèrement, mais n'est pas dissoute. Le liquide exhale une odeur légèrement putride.

Gluten. — Au bout de trente-six heures, le gluten subit un commencement de dissolution, mais cette action ne se poursuit pas.

Sucre de canne. — La solution se trouble fortement au bout de douze à quinze heures ; il n'y a pas, au début, de réaction acide. Le liquide en excès ne réduit pas la liqueur de Fehling. Au bout de quarante-huit heures, la réaction est devenue acide ; neutralisé, le liquide réduit la liqueur de Fehling. L'acidité est due à de l'acide lactique peut-être mélangé à un peu d'acide acétique.

Quand le liquide est au préalable additionné de craie, la réaction du glucose se produit également d'une façon très nette au bout de trente-six à quarante-huit heures.

A l'abri de l'air, la solution de sucre de canne est transformée en acide lactique, qui existe en forte proportion dans la liqueur.

Glucose. — Ensemencé dans une solution de glucose, le bacille B la trouble au bout de vingt-quatre heures Déjà le liquide présente une acidité manifeste. Le développement est très luxuriant au bout de quarante-huit heures. On trouve encore cependant une assez grande quantité de glucose non transformé. Le liquide ne renferme pas d'alcool. Traité par l'oxyde de zinc à chaud, il donne par refroidissement un dépôt cristallin de lactat e de zinc.

Dans la solution additionnée de craie, le carbonate de chaux est attaqué au bout de vingt-quatre heures, avec dégagement de gaz. La réaction reste acide au bout de quarante-huit heures. On ne trouve pas d'alcool. En revanche, il se forme une grande quantité d'acide lactique. Le glucose disparaît peu à peu.

Dans des ballons privés d'air, la transformation du glucose en acide lactique est accompagnée d'un dégagement de gaz qui cesse bientôt d'ailleurs.

Amidon. — L'empois se trouble au bout de douze heures, il exhale une odeur fétide ; sa consistance diminue, mais il n'est pas fluidifié. Au bout de vingt-quatre heures, il paraît subir un commencement de liquéfaction. La réaction est alors légèrement acide. On n'observe pas de réduction de la liqueur cupro-potassique. Au bout de quarante-huit heures, les couches supérieures sont fluidifiées sur une épaisseur de demi-centimètre environ. La réaction est toujours légèrement acide. Le liquide, neutralisé et traité par le réactif de Fehling, indique la présence de traces de glucose. Avec la craie, la réaction acide apparaît plus tard. La fluidification n'est pas plus marquée ; on ne trouve pas de glucose.

A l'abri de l'air, le bacille B donne lieu à un léger développement de gaz. Au bout de quarante-huit heures, le liquide est assez franchement acide. L'odeur est plus forte et plus putride que dans les cultures faites à l'air libre. On trouve de l'acide lactique et de l'acide butyrique en proportion moindre.

Conclusion. — Le bacille B coagule rapidement le lait. Très probablement, c'est l'acide lactique formé qui est la cause de cette coagulation. Cependant la rapidité avec laquelle se produit cette coagulation tendrait à faire croire qu'elle est produite par une présure sécrétée par le microbe ; mais le liquide, neutralisé et filtré à travers une bougie Chamberland, n'a aucune action sur du lait stérilisé. Force est d'admettre que c'est l'acide lactique qui est l'agent de la coagulation ;

Il gonfle légèrement la caséine mais ne la dissout pas ;

Il ne dissout pas non plus la fibrine et l'albumine ;

Il intervertit au bout d'un certain temps le sucre de canne, grâce à une sucrase dont la sécrétion est lente et peu abondante ;

Il transforme le glucose en acide lactique et l'amidon en acide lactique et en acide butyrique.

Bacille C.

Lait. — Quand on ensemence ce bacille dans du lait, on voit qu'au bout de vingt-quatre heures, les couches supérieures du lait ont changé d'aspect : elles deviennent jaunes, ocracées ; en même temps leur fluidité paraît augmentée. Au-dessous, le lait a gardé sa couleur normale. En l'examinant bien pourtant, on voit un très fin précipité granuleux en train de se former. La dissolution de la caséine (car c'est une véritable dissolution que ce changement de couleur et de densité) progresse de haut en bas. Au bout de trente-six heures, la moitié du lait est ainsi transformée. En même temps, le liquide devient plus transparent dans les couches supérieures. Au troisième jour, le lait est, en entier, transformé en un liquide jaune brunâtre, semi-transparent. Au fond du ballon on voit un dépôt blanchâtre granuleux assez abondant. Au bout de dix à douze jours, on voit toujours ce dépôt, mais le liquide qui se trouve au-dessus est limpide.

Il présente une réaction alcaline due aux composés ammoniacaux qui se sont formés.

Dans le lait additionné de craie, les choses se passent de la même façon.

Dans le lait mis à l'abri de l'air, la caséine est précipitée sous forme de grumeaux qui se redissolvent lentement. Le lait ainsi transformé exhale une odeur putride assez forte.

Lactose. — La solution de sucre de lait n'est pas transformée en acide lactique par le bacille C, bien que ce microbe s'y développe; mais ce développement se fait aux dépens des éléments azotés du bouillon.

Caséine. — Il dissout la caséine qui est en suspension dans du bouillon faible, mais plus lentement que la caséine du lait. Au bout de quarante-huit heures, le liquide est trouble; les fragments de caséine se délitent et les détritus tombent au fond du ballon. Au bout de trois jours, une grande partie de la caséine a disparu. Le liquide se colore en brun et s'éclaircit avec le temps.

A l'abri de l'air, la dissolution de la caséine se fait très lentement.

Albumine. — Au bout de vingt-quatre heures, le bouillon louchit légèrement, une pellicule grise flotte à la surface. Les fragments d'albumine paraissent légèrement gonflés. Au bout de quarante-huit heures, l'albumine est vivement attaquée. Au troisième jour, la dissolution est très avancée. Le liquide est louche et jaunâtre. Au fond du ballon se trouvent un dépôt floconneux grisâtre et quelques petits fragments d'albumine qui sont gonflés et presque transparents. Le liquide est neutre. Il tient en dissolution des peptones. Son odeur est fade. Au bout de sept à huit jours, on voit encore au fond du ballon un léger résidu solide. On perçoit assez nettement une odeur ammoniacale. Le liquide renferme en effet du carbonate et du valérianate d'ammoniaque. La réaction est alcaline.

A l'abri de l'air, la dissolution de l'albumine se fait plus lentement. La molécule d'albumine est décomposée avec formation de produits volatils désagréablement odorants. Au bout de cinq ou six jours, il reste encore une assez grande quantité d'albumine non dissoute.

Fibrine. — La bacille C gonfle assez fortement la fibrine au bout de quinze heures et la rend même un peu transparente. Le liquide est trouble et exhale une odeur fade. Au bout de vingt-quatre heures, les couches supérieures de la fibrine se sont fondues en un liquide nuageux grisâtre. La réaction est neutre. Au bout de quarante-huit heures, la dissolution se poursuit, une moitié de la fibrine a à peu près disparu. Le reste est rongé et friable. Au cinquième jour, la dissolution se ralentit un peu: à ce moment, le liquide exhale une odeur légèrement ammoniacale. Au bout de sept ou huit jours, il reste encore au fond du ballon une petite quantité de fibrine, mais réduite en très petits fragments. L'odeur est plus franchement ammoniacale, la réaction est légèrement alcaline. A l'abri de l'air, la décomposition de la fibrine se fait avec production de gaz odorants. La dissolution est plus lente et s'arrête plus vite qu'à l'air libre.

Gluten. — Le bacille C dissout très lentement le gluten ; la dissolution n'est pas complète au bout de vingt jours. Le liquide est très trouble.

Sucre de canne. — Au bout de vingt-quatre heures, la solution est assez fortement troublée. La réaction est faiblement acide. Neutralisé, le liquide réduit, mais très faiblement, le réactif cupro-potassique. Au bout de quarante-huit heures, la réduction est très énergique. Le liquide renferme une forte proportion de glucose et un peu d'acide acétique. Au troisième jour, le liquide, neutralisé et distillé, donne un peu d'alcool. Quand la solution est additionnée de craie, elle réduit également bien la liqueur de Fehling au bout de trente-six à quarante-huit heures. L'aci-

dité, d'abord faible, augmente un peu avec le temps. Au bout de trois jours, la solution réduit plus faiblement le réactif cupro-potassique. Elle contient un peu d'alcool et de l'acide acétique en partie libre, en partie combiné. A l'abri de l'air, il se forme de l'alcool, de l'acide acétique et de l'acide butyrique (?).

Glucose. — Au bout de vingt-quatre heures, trouble léger ; réaction nettement acide. Au bout de quarante-huit heures, acidité plus forte; neutralisé, le liquide réduit encore nettement la liqueur de Fehling. Distillé, il fournit de l'alcool en quantité assez notable.

Additionné de craie, le liquide ne réduit plus le réactif cupropotassique au bout de cinq ou six jours. Le glucose s'est transformé en alcool, puis en acide acétique.

A l'abri de l'air, production d'alcool et peut-être d'acide butyrique.

Amidon. — Le bacille C se développe très mal dans l'empois d'amidon ; il ne produit ni liquéfaction ni saccharification.

Conclusion. — Le bacille C dissout la caséine du lait sans coagulation préalable ;

Il transforme très lentement le gluten ;

Il dissout assez rapidement et à peu près complètement l'albumine ;

Il dissout à peu près dans le même laps de temps la fibrine ;

Il intervertit énergiquement le sucre de canne et transforme une partie de ce sucre interverti en alcool ;

Il transforme le glucose en alcool et en acide acétique ;

Il n'a aucune action sur l'amidon et le lactose.

Bacille D.

Lait. — Ensemencé dans du lait, D détermine une légère précipitation de la caséine, mais le précipité ne tarde pas à se dis-

soudre. La dissolution commence par les couches supérieures et se poursuit de haut en bas ; au bout de vingt-quatre heures, la couleur du lait s'est modifié sur une épaisseur d'un demi-centimètre environ ; le liquide est brun jaunâtre, plus fluide, opalescent. Au bout de trente-six heures, le liquide, au repos, se partage en deux couches égales comme épaisseur : la couche supérieure est opalescente, brun jaunâtre ; la couche inférieure est blanche, opaque et présente un précipité finement granuleux. Au bout de trois ou quatre jours, la coloration brun jaunâtre a envahi tout le liquide. Celui-ci, d'abord trouble, s'éclaircit en laissant déposer un précipité granuleux peu abondant. Au-dessous de ce précipité, on voit un mince dépôt de phosphate tricalcique. Analysé à ce moment, le liquide tient en dissolution des peptones, de la leucine, de la tyrosine. La réaction est neutre, puis, vers le dixième ou douzième jour, devient un peu alcaline. Dans le lait additionné de craie, la dissolution de la caséine se fait dans le même laps de temps et de la même manière.

Lactose. — Ce micro-organisme n'a aucune action sur le lactose.

Caséine. — Le bacille D dissout la caséine en suspension dans du bouillon faible, mais plus lentement que dans le lait. Le liquide se trouble, la caséine est gonflée, puis dissoute. La dissolution est à peu près complète au bout de sept à huit jours.

Albumine. — Au bout de douze heures, l'albumine paraît attaquée assez vivement. Les fragments sont gonflés, le liquide est très trouble et exhale une odeur d'hydrogène sulfuré. Cette odeur persiste pendant quelque temps, puis c'est l'odeur des composés ammoniacaux qui domine. La couleur du liquide change, il devient jaune brun sale. L'attaque énergique du début ne s'est pas poursuivie, et au septième ou huitième jour, on trouve une grande quantité d'albumine solide au fond du ballon.

Fibrine. — L'attaque de la fibrine est moins vive au début que celle de l'albumine. Le bouillon louchit ; au bout de vingt-quatre heures, les filaments de fibrine sont légèrement gonflés. L'odeur d'hydrogène sulfuré est un peu moins accentuée que dans le ballon contenant l'albumine. La réaction du liquide est neutre. Au bout de quarante-huit heures, la dissolution ne paraît pas avoir beaucoup progressé ; cependant les filaments de fibrine sont un peu rongés. Au troisième jour, au-dessus de la fibrine solide, le bouillon est très trouble. Examiné au bout de sept ou huit jours, le ballon contient encore une forte proportion de fibrine.

Cette suspension brusque de l'action dissolvante du microbe pourrait peut-être s'expliquer par la présence de l'hydrogène sulfuré dans le liquide, présence démontrée par la coloration rouge que prend le liquide sous l'influence du nitro-prussiate de soude à 1 %.

Gluten. — Le gluten n'est pas dissous.

Sucre de canne. — Le bacille D n'intervertit pas le sucre de canne et ne produit dans la solution aucune transformation.

Glucose. — Développement luxuriant au bout de trente-six heures ; réaction acide assez nette. A ce moment, la solution est riche encore en glucose. Au bout de quarante-huit heures, neutralisée et distillée, elle donne une quantité notable d'alcool. Cette quantité diminue au bout de trois jours. La réaction est alors assez fortement acide. Cette acidité est due à de l'acide acétique.

La solution de glucose additionnée de craie présente une réaction faiblement acide au bout de vingt-quatre heures. Le liquide contient de l'alcool. Au bout de quarante-huit heures, la liqueur de Fehling est encore réduite. Au cinquième jour, on ne trouve presque plus de glucose, mais en revanche une assez grande quantité d'acide acétique.

Amidon. — L'empois est à peu près complètement fluidifié au bout de douze heures. Au fond du ballon se trouve un précipité floconneux assez abondant. La réaction du liquide est très faiblement acide. Neutralisé, il réduit assez énergiquement la liqueur de Fehling. Au bout de vingt-quatre heures, la réaction devient plus franchement acide. On trouve du glucose en plus grande quantité. La proportion de glucose augmente encore au bout de trente-six heures. Cependant tout l'amidon n'est pas transformé, car il se produit encore une coloration bleue sous l'influence de la teinture d'iode. Au bout de quarante-huit heures, l'acidité du liquide est plus marquée : elle est due à de l'acide acétique ou propionique (?).

Dans l'empois d'amidon additionné de craie, la fluidification est aussi rapide. Au bout de vingt-quatre heures, la liqueur de Fehling est réduite énergiquement. Il se produit une faible coloration bleue par l'action de l'iode. Au bout de quarante-huit heures, presque tout l'amidon a disparu.

Conclusion. — En résumé, ce micro-organisme dissout assez rapidement la caséine du lait après une précipitation légère de cette caséine ;

Il attaque avec assez d'énergie l'albumine et la fibrine, mais l'action se suspend très vite ;

Il transforme le glucose en alcool et l'amidon en glucose ;

Il n'a aucune action sur le gluten, le sucre de canne et le lactose.

Bacille E.

Lait. — Le lait ne subit encore aucune transformation au bout de vingt-quatre heures. Au bout de trente-six heures, il y a précipitation et dissolution de la caséine. Le liquide est jaune, légèrement brunâtre et louche. La réaction est très légèrement acide. Au bout de quarante-huit heures, une grande partie de

la caséine est transformée. Il reste encore dans le liquide des grumeaux assez volumineux. Au bout de trois jours, les couches inférieures du lait transformé sont troubles et jaunâtres, les couches supérieures semi-transparentes. La réaction du liquide est légèrement acide. Il contient, à ce moment, des peptones, des matières extractives et une faible quantité de composés ammoniacaux.

Dans le lait additionné de craie, la caséine est totalement digérée au bout de trois ou quatre jours.

Lactose. — Le bacille E finit par troubler la solution de lactose au bout de trente-six heures environ. Le liquide est légèrement acide au début, puis cette acidité devient plus marquée ; elle est due à la présence d'une certaine quantité d'acide lactique. Au troisième jour, le liquide rougit nettement le papier de tournesol; mais, neutralisé, il réduit encore bien le réactif de Fehling.

Quand la solution est additionnée de craie, la transformation du lactose se fait plus rapidement et surtout plus complètement.

Caséine. — Au bout de vingt-quatre heures, les fragments de caséine sont gonflés légèrement. Au bout de trente-six heures, l'attaque n'est pas encore très marquée. Le liquide est très trouble; les fragments de caséine se délitent et forment un dépôt granuleux. Au bout de quarante huit heures, le nombre des fragments de caséine intacts est encore considérable. La dissolution se fait donc lentement. Au bout de sept à huit jours, elle est complète ; le liquide est limpide et jaunâtre.

Albumine. — Au bout de vingt-quatre heures, le liquide est trouble, les fragments d'albumine semblent légèrement gonflés, mais c'est la seule modification qu'ils présentent. L'odeur du milieu est faiblement putride. Au bout de trente-six heures, la fétidité augmente ; la couleur du liquide se fonce légèrement. Au bout de quarante-huit heures, les fragments sont assez for-

tement gonflés ; la couleur du liquide est devenue légèrement brunâtre. On perçoit, au troisième ou quatrième jour, l'odeur de l'hydrogène sulfuré mêlée à celle de l'ammoniaque. Au huitième jour, l'albumine n'est pas encore dissoute. En somme, ce microbe ne dissout pas l'albumine. Il lui fait subir une transformation qu'il m'est impossible de définir, mais qui est attestée par l'odeur qu'exhale le milieu.

Fibrine. — Au bout de douze heures, pas d'attaque appréciable. Au bout de vingt-quatre heures, la fibrine est légèrement rongée. Les couches supérieures forment, au bout de quarante-huit heures, une bouillie grisâtre composée de fibrine dissoute et de détritus solides. Au troisième jour, l'aspect de la culture est le même. On perçoit une odeur légèrement fétide et ammoniacale. La dissolution de la fibrine ne fait plus de progrès les jours suivants.

Gluten. — Le gluten n'est pas dissous. Le bouillon se trouble assez fortement au bout de vingt-quatre heures, mais le gluten reste intact.

Sucre de canne. — La solution se trouble au bout de quinze heures. La réaction est nettement, quoique modérément acide ; neutralisée, la solution réduit énergiquement le réactif cupropotassique. Au bout de quarante-huit heures, la réaction est toujours acide, la réaction du glucose se produit énergiquement. Au bout de cinq ou six jours, le liquide réduit encore la liqueur de Fehling. Avec la craie, le glucose disparaît assez rapidement pour former de l'acide lactique.

Glucose. — Au bout de quinze heures, trouble modéré ; réaction acide ; neutralisé et distillé, le liquide donne une faible quantité d'alcool.

L'acidité est due à de l'acide acétique et à de l'acide lactique. La quantité d'alcool augmente un peu au bout de vingt-quatre

heures, puis cet alcool finit par disparaître au quatrième ou cinquième jour.

Amidon.—Au bout de vingt-quatre heures, l'empois d'amidon est fluidifié en partie. La réaction du liquide est nettement acide; neutralisé, il réduit faiblement la liqueur de Fehling. Au bout de quarante-huit heures, réaction plus acide, fluidification plus marquée de l'empois, réduction très nette du réactif cupropotassique. Réduction énergique au troisième jour. Le liquide exhale une odeur aigre assez forte ; il renferme de l'acide acétique en proportions considérables.

Quand l'empois d'amidon est additionné de craie, sa fluidification est encore plus rapide et plus complète. Au bout de trente-six heures, la présence du glucose est manifeste. Ce glucose est peu à peu transformé et finit par disparaître au bout de sept à huit jours.

Conclusion. — On voit que, par l'action de ce bacille, la caséine du lait, d'abord précipitée, se redissout assez rapidement ; les phénomènes se produisent après une période d'incubation assez longue (vingt-quatre heures) ;

Le lactose est transformé peu à peu en acide lactique ;

L'albumine est seulement gonflée, mais ne se dissout pas ;

La fibrine est dissoute en partie ;

Le gluten reste intact ;

Le sucre de canne est interverti assez rapidement et énergiquement ;

Le glucose est partiellement transformé en alcool ;

L'empois d'amidon est fluidifié et saccharifié.

Bacille F.

Lait. — Ce bacille, ensemencé dans du lait, n'y amène aucun changement avant trente-six heures. Au bout de vingt-quatre heures, le lait s'épaissit seulement un peu. A la trente-sixième

heure, il se coagule. Le coagulum est blanc, mou, gélatiniforme. Bientôt il commence à se dissoudre. Au bout de quarante-huit heures, il est diffluent, presque liquide. Le liquide qui le baigne est louche, blanc jaunâtre.

La dissolution s'accentue les jours suivants. Elle est à peu près complète au bout de quatre ou cinq jours. Le liquide renferme les produits ordinaires de la transformation de la caséine. La réaction, à un moment très légèrement acide, devient à la longue un peu alcaline.

Dans le lait additionné de craie, les phénomènes suivent absolument la même marche.

Quand on ensemence le microbe dans du lait privé d'air, on observe la coagulation au bout de quarante-huit heures à trois jours environ. Le caillot est plus compact, plus dur que dans le lait où l'air a libre accès. Peu à peu le caillot se fragmente, se délite, et ses débris se dissolvent lentement. Le liquide est trouble. Le lait, à l'ouverture des ballons, exhale une odeur légèrement putride.

Lactose. — Ce bacille se développe assez bien dans les solutions de lactose et les trouble légèrement. Au bout de vingt-quatre heures, on n'observe pas de réaction acide. Au bout de trente-six heures, même état. Au bout de quarante-huit heures, il se forme une pellicule mince délicate à la surface. La réaction est très faiblement acide, L'acidité n'augmente pas les jours suivants.

Caséine. — Au bout de vingt-quatre heures, le bouillon est trouble ; il n'y a pas d'attaque. Au bout de trente-six heures, le trouble persiste. Les fragments de caséine paraissent légèrement rongés. La caséine se délite peu à peu et se dissout lentement.

Albumine. — Le bouillon se trouble fortement au bout de vingt-quatre heures. L'albumine ne paraît pourtant pas attaquée. Le liquide exhale une odeur légèrement fétide. Au bout de trente

six heures, même état. Au bout de quarante-huit heures, l'albumine est intacte ; il en est de même les jours suivants. A la longue, les fragments d'albumine se gonflent et la coloration du liquide devient jaunâtre.

Fibrine. — Le bouillon se trouble légèrement ; au bout de vingt-quatre heures, les filaments de fibrine se gonflent légèrement, mais il n'y a pas encore de dissolution apparente. Au bout de quarante-huit heures, les filaments gonflés se délitent. Bientôt les couches supérieures de la fibrine se dissolvent. La dissolution s'accentue les jours suivants. Néanmoins, même au bout de dix jours, il reste un résidu solide assez considérable.

Sous l'action de ce microbe, la fibrine ne dégage pas d'odeur désagréable comme l'albumine.

Gluten. — Le bouillon se trouble d'abord ; au bout de vingt-quatre heures, les couches supérieures du gluten sont gonflées et désagrégées. Il n'y a pas de mauvaise odeur. Au bout de quarante-huit heures, les couches supérieures du gluten sont dissoutes. Le liquide est épais et trouble. Sa coloration se fonce peu à peu. Au troisième jour, la dissolution continue ; elle est complète au bout de sept ou huit jours. Le liquide est jaune brunâtre ; au fond du ballon se trouve un dépôt floconneux jaunâtre. Le liquide exhale alors une odeur ammoniacale prononcée. On y trouve de la leucine, de la tyrosine et des composés ammoniacaux.

A l'abri de l'air, la dissolution se produit aussi. Le liquide est plus trouble et, au fond du ballon, il existe un dépôt floconneux abondant. On observe, en outre, une production de gaz.

Sucre de canne. — La solution se trouble au bout de vingt-quatre heures ; elle ne présente pas de réaction acide. La liqueur de Fehling n'est pas réduite. Au bout de quarante huit heures et les jours suivants, même état. Pas de réduction cupropotassique appréciable.

Glucose.— Au bout de vingt-quatre heures, la solution se trouble. La réaction est acide. Néanmoins tout le glucose est loin d'être transformé, car la liqueur cupro-potassique est encore énergiquement réduite. Neutralisée et distillée, la solution fournit une assez grande quantité d'alcool ; une partie de cet alcool est oxydée. Quand la solution de glucose est additionnée de craie, celle-ci est décomposée peu à peu par l'acide qui se forme. Les produits intermédiaires entre le glucose et l'acide, tels que l'alcool, existent en moins forte proportion. En outre, le glucose finit par disparaître complètement.

A l'abri de l'air, il se produit une légère fermentation. Le glucose est transformé en alcool. Il y a, de plus, formation d'une certaine quantité d'acide acétique et peut-être d'acide butyrique.

Amidon. — L'empois d'amidon est fluidifié en très grande partie au bout de quinze heures. Au fond du ballon se trouve un dépôt floconneux, blanchâtre, peu abondant. Le liquide est légèrement acide. Il réduit énergiquement, après neutralisation, la liqueur de Fehling. Au bout de trente-six heures, la fluidification est complète ; coloration jaunâtre ; pas de mauvaise odeur. La liqueur cupro-potassique est toujours réduite. A la distillation, après neutralisation, on trouve des quantités assez considérables d'alcool. Le liquide contient aussi de l'acide acétique. A l'abri de l'air, l'amidon se transforme en acide butyrique avec dégagement de gaz.

Conclusion. — En résumé, ce bacille coagule le lait et redissout le coagulum. Cette coagulation et cette dissolution sont dues à une présure et à une caséase. C'est la présure qui agit surtout à l'abri de l'air ;

Il ne transforme pas d'une façon appréciable la lactose en acide lactique ;

Il ne dissout pas l'albumine ;

Il dissout partiellement la fibrine, complètement le gluten ;

Il n'intervertit pas le sucre de canne ; transforme le glucose en alcool et en acide acétique ; fluidifie et saccharifie rapidement l'empois d'amidon. Cette dernière action est due à une amylase.

Bacille G.

Lait. — Le lait se coagule au bout de trente-six heures. Le caillot est mou, blanc et friable. Il se dissout bientôt. Au bout de quarante-huit heures, il a disparu aux trois quarts. Le liquide est devenu clair et jaunâtre. La dissolution se poursuit les jours suivants. Au quatrième jour, on trouve encore cependant des grumeaux assez nombreux de caséine non dissoute. Ces grumeaux ont une densité très faible. Ils flottent à la surface du liquide. Celui-ci est limpide. Au fond du ballon on voit un précipité blanchâtre assez abondant. La réaction du liquide est un peu acide.

Quand le lait est additionné de craie, les choses se passent de la même manière.

Lactose. — La solution louchit au bout de vingt-quatre heures ; la réaction est nettement, quoique faiblement, acide. Le louche s'accentue un peu les jours suivants ; la réaction est toujours faiblement acide. Au bout de quatre jours, la proportion d'acide ne paraît pas sensiblement augmentée. La liqueur de Fehling est encore énergiquement réduite. Dans la solution additionnée de craie, la réaction est faiblement acide au bout de trois ou quatre jours. Le liquide, au bout de sept ou huit jours, réduit encore nettement la liqueur cupro-potassique.

Caséine. — Attaque faible au bout de vingt-quatre heures, plus marquée au bout de quarante-huit heures. La caséine se dissout peu à peu. Au bout de sept à huit jours, le ballon contient un liquide clair jaunâtre avec un dépôt blanchâtre au fond.

Albumine. — La dissolution de l'albumine se fait rapidement.

Déjà au bout de vingt-quatre heures, une grande quantité en est dissoute. Le liquide est un peu louche et a pris une teinte jaunâtre assez nette. A sa surface flotte une membrane grisâtre, mince et plissée. Au bout de quarante-huit heures, la dissolution s'est considérablement accentuée. La couleur du liquide s'est foncée. Le dépôt qui se trouve au fond du ballon est formé de flocons légers jaunâtres à peu près transparents. Au troisième jour, l'albumine est entièrement dissoute. Le liquide est limpide, jaunâtre, légèrement brun. Sa réaction devient alcaline avec le temps et il exhale une odeur ammoniacale assez prononcée. Au troisième jour, l'analyse y décèle la présence d'une grande quantité de peptones et, plus tard, de la leucine, de la tyrosine et de composés ammoniacaux.

Fibrine. — Bien que la fibrine se dissolve rapidement, sa dissolution est pourtant plus lente que celle de l'albumine. Au bout de douze heures, le liquide est légèrement trouble. La fibrine est gonflée et déjà en train de se dissoudre. Au bout de vingt-quatre heures, les couches supérieures sont déjà liquéfiées. Le bouillon, à ce niveau, est trouble, nuageux, grisâtre. Au bout de quarante-huit heures, une bonne moitié de la fibrine est déjà dissoute. Le liquide est toujours légèrement trouble ; une pellicule grise flotte à sa surface. Au quatrième ou cinquième jour, le liquide s'éclaircit ; on trouve au fond du ballon des filaments de fibrine encore inattaqués [mais rares], mélangés à un dépôt floconneux grisâtre abondant. Le liquide exhale une odeur aigre assez nette. Il rougit le papier de tournesol. Il paraît se former, avec le temps, de la leucine, de la tyrosine, du carbonate, du valérianate et de l'acétate d'ammoniaque en même temps que de l'acide acétique libre.

Gluten. — La dissolution du gluten est faible et très lente ; elle est presque nulle encore au bout de quatre ou cinq jours.

Sucre de canne. — Réaction modérément acide, au bout de

vingt-quatre heures. Le liquide neutralisé ne réduit pas la liqueur de Fehling. Au bout de quarante-huit heures, la réaction est toujours faiblement acide. La solution paraît décolorer légèrement le réactif cupro-potassique et y forme à la longue un précipité verdâtre léger. En somme, on peut dire que le bacille G n'intervertit pas le sucre de canne.

Glucose. — Réaction acide au bout de vingt-quatre heures. Neutralisée et distillée, la solution ne donne pas d'alcool. L'acidité du liquide est due à la présence d'une petite quantité d'acide lactique. Au bout de huit jours, la solution réduit encore énergiquement le réactif de Fehling.

Amidon. — Le bacille G se développe bien aux dépens des éléments azotés du bouillon. Au bout de douze heures, l'empois est trouble ; sa consistance semble très légèrement diminuée. Au bout de vingt-quatre heures, pas de changement marqué. Au bout de quarante-huit heures, l'empois, même additionné d'eau, passe difficilement au travers d'un filtre de papier. Il prend une coloration bleue intense, sous l'influence de la teinture d'iode. Au troisième jour, à la surface, on voit une très mince couche de liquide transparent. La réaction est alors acide. Neutralisé, filtré, traité par la liqueur de Fehling et chauffé, le liquide s'épaissit et prend une teinte rouge carmin très marquée et persistante. Cette réaction indique-t-elle la présence d'une faible quantité de glucose, ou bien encore indiquerait-elle la transformation de l'amidon en une substance différente inconnue? Il m'a été impossible d'éclaircir ce problème.

Conclusion. — De tous ces faits, nous pouvons conclure que le bacille G est un puissant agent de dissolution de la fibrine et surtout de l'albumine. (J'ai essayé d'isoler la diastase, qui intervient certainement dans ce phénomène, mais je n'ai pu y arriver.)

Il coagule le lait et redissout incomplètement la caséine précipitée ;

Il n'a qu'une action très faible et négligeable sur le gluten, le sucre de canne, le glucose et l'amidon ;

Il transforme faiblement le lactose en acide lactique.

Bacille H.

Lait. — Au bout de douze heures, la caséine est précipitée sous forme de grumeaux très petits. Le lait, à la partie supérieure, s'est transformé en un liquide trouble, jaune brunâtre. Peu à peu cette transformation envahit tout le lait (vingt-quatrième heure). Ce lait transformé, filtré sur de la flanelle, donne un liquide louche, qui traité par l'acide acétique précipite légèrement. La caséine est donc transformée. Au quatrième jour, le liquide est jaune brunâtre. Au repos, les parties supérieures sont transparentes, les couches inférieures sont troubles. Il existe au fond du ballon un précipité blanchâtre qui ne disparaît pas, même au bout d'un temps très long.

Dans un ballon privé d'air, la peptonification de la caséine se produit, mais plus lentement et moins complètement. Il y a un léger développement de gaz et le liquide reste trouble pendant longtemps. Au fond du ballon on voit, au bout de trois ou quatre jours, un précipité granuleux abondant. L'odeur du liquide est franchement putride. Il s'est formé des produits volatils odorants, que je n'ai pu caractériser chimiquement. On trouve en outre de la leucine, de la tyrosine et du butyrate (?) d'ammoniaque.

Lactose. — La solution de lactose ne devient faiblement acide qu'au bout de trois jours. Cette acidité s'accentue un peu avec le temps, mais sans jamais être très marquée. Il se produit lentement de faibles quantités d'acide lactique en présence de l'air, comme à l'abri de l'air.

Caséine. — Au bout de vingt-quatre heures, les fragments de caséine sont gonflés et subissent un commencement de liqué-

faction. Le liquide, très trouble, dégage une odeur fade, désagréable. La réaction est neutre. Au bout de trois jours, une certaine quantité de caséine a disparu. La dissolution est beaucoup plus marquée au bout de quatre ou cinq jours. Le liquide s'éclaircit un peu et laisse un dépôt granuleux blanchâtre au fond du ballon.

A l'abri de l'air, la caséine est aussi attaquée. Les fragments se délitent au bout de quarante-huit heures et forment au fond du ballon un abondant précipité grumeleux. Il y a en même temps dégagement de gaz. Le liquide est trouble, la caséine disparaît lentement. L'odeur du milieu est nettement putride.

Albumine. — Le bouillon se trouble au bout de vingt-quatre heures. Il exhale une odeur légèrement fétide. Les cubes d'albumine se gonflent et deviennent transparents sur les bords. Au bout de trois jours, l'albumine est réduite en petits fragments qui forment au fond du ballon un dépôt irrégulièrement granuleux. Au-dessus, le liquide est très trouble ; il tient en suspension des nuages jaunâtres, épais. La quantité d'albumine solide diminue peu à peu. Au bout de sept à huit jours, on trouve encore cependant au fond du ballon un précipité floconneux, blanchâtre, assez abondant. A ce moment, le liquide exhale une odeur ammoniacale ; il renferme de la leucine, de la tyrosine et des composés ammoniacaux qui lui donnent une réaction alcaline.

A l'abri de l'air, l'attaque de l'albumine se fait avec dégagement de gaz. Les cubes d'albumine se gonflent, deviennent transparents et se dissolvent lentement. Au bout de huit jours, la quantité d'albumine non dissoute est encore considérable.

Fibrine. — Au bout de trente-six heures, l'attaque de la fibrine est encore peu marquée. Le liquide est trouble et dégage une odeur désagréable. Au bout de quarante-huit heures, les filaments de fibrine sont très friables. Leurs débris forment au fond du ballon un dépôt grisâtre. Mais bientôt ces débris sont atta-

qués et disparaissent en partie. Au bout de huit jours, la fibrine est dissoute presque en totalité. Le liquide est riche en flocons grisâtres, et au fond du ballon se trouve encore un faible résidu solide.

Gluten. — Le bacille H dissout lentement le gluten en le gonflant d'abord. Au bout de quarante-huit heures, le liquide est très trouble. Les couches supérieures du gluten sont déjà dissoutes. La dissolution fait des progrès lents, car au bout de huit jours c'est à peine si la moitié du gluten est transformée.

Sucre de canne. — Trouble assez marqué au bout de vingt-quatre heures. La réaction est déjà assez fortement acide. Neutralisé, le liquide réduit faiblement la liqueur de Fehling. Au bout de trente-six heures, l'interversion est un peu plus marquée. La distillation de ce liquide, au bout de quarante-huit heures, ne donne pas d'alcool.

Glucose. — Trouble assez prononcé au bout de vingt-quatre heures. Réaction assez nettement acide. Neutralisé, le liquide réduit encore la liqueur cupro-potassique. Distillé, il ne donne pas d'alcool. Au bout de quarante-huit heures, pas de changement. La réaction acide est due à l'acide butyrique.

A l'abri de l'air, cette formation d'acide butyrique est plus nette.

Amidon. — Au bout de douze heures, la fluidification de l'empois est à peu près complète ; le liquide n'exhale pas de mauvaise odeur. La réaction est faiblement acide. Neutralisé, il réduit faiblement la liqueur de Fehling. Au bout de vingt-quatre heures, la réduction est plus nette. Au bout de quarante-huit heures, la réaction est fortement acide ; la réduction de la liqueur cupro-potassique est très nette. Le liquide, traité par l'iode, prend une coloration faiblement pourprée.

Avec la craie, la fluidification est aussi rapide. Au bout de trois ou quatre jours, tout l'amidon est transformé.

A l'abri de l'air, l'empois est transformé en acide butyrique avec dégagement de gaz; il y a transformation préalable de l'amidon en glucose.

Conclusion. — Le micro-organisme H précipite et dissout la caséine ;

Il n'a qu'une action insignifiante sur le lactose ;

Il dissout assez énergiquement, mais lentement, la fibrine ;

Il dissout un peu moins bien et incomplètement l'albumine ;

Il dissout incomplètement et lentement le gluten; il intervertit faiblement le sucre de canne; fluidifie et saccharifie rapidement l'empois d'amidon.

Bacille I.

Lait. — Ce microbe se développe bien dans le lait, mais sans lui faire subir aucun changement apparent pendant les trois ou quatre premiers jours. Vers le quatrième jour, le lait se coagule en masse. Le caillot est blanc et friable. Au-dessus, on voit une mince couche de liquide un peu louche et grisâtre. Au cinquième jour, le coagulum ne s'est pas rétracté. La quantité de liquide ambiant n'a pas augmenté; le caillot se fragmente facilement quand on agite le ballon légèrement. Il ne se redissout pas, même au bout d'un temps très long. La réaction du liquide est franchement acide.

Dans le lait additionné de craie, la coagulation est un peu plus lente à se faire et le coagulum qui se forme est plus mou.

Dans le lait à l'abri de l'air, la coagulation se produit au bout de quatre ou cinq jours. On observe au début quelques bulles de gaz, surtout quand le lait est additionné de craie. Le coagulum ne se redissout pas.

Lactose. — Au bout de vingt-quatre heures, la solution de lactose se trouble légèrement. La réaction est légèrement acide. Au bout de trente-six heures, le liquide rougit plus fortement le

papier de tournesol. A ce moment, on trouve une petite quantité d'acide lactique. Au bout de quarante-huit heures, le liquide est assez nettement acide. Au troisième ou quatrième jour, la quantité d'acide lactique a sensiblement augmenté. Néanmoins tout le lactose n'est pas transformé, car le liquide réduit encore nettement la liqueur de Fehling.

Dans la solution additionnée de craie, la même transformation se produit ; seulement l'acide lactique qui se forme est neutralisé en partie par le carbonate de chaux, ce qui fait que la réaction est moins acide. Au bout d'une dizaine de jours environ, tout le lactose s'est transformé en acide lactique.

Dans la solution additionnée de craie et privée d'air, il se forme aussi de l'acide lactique, et cette transformation est accompagnée d'un développement de gaz assez abondant.

Albumine. — Au bout de vingt-quatre heures, le bouillon louchit. Le bacille I attaque assez vivement l'albumine. La réaction du liquide est neutre. Au bout de quarante-huit heures, la dissolution est assez avancée. Le bouillon prend, avec le temps, une coloration jaune brunâtre. Au bout de trois jours, les 4/5 des fragments d'albumine ont disparu. Le liquide, d'abord trouble, devient limpide. Au fond du ballon se trouve un très léger dépôt brunâtre. A ce moment, le liquide contient une forte proportion de peptones. A mesure que le développement des microbes continue, cette proportion diminue ; on trouve, en revanche, de la leucine, de la tyrosine et des composés ammoniacaux. La réaction du liquide devient alcaline. A l'abri de l'air, l'albumine se gonfle et devient transparente. Les fragments se dissolvent peu à peu. Au dixième ou douzième jour, la dissolution est à peu près complète. Le liquide exhale alors une odeur fétide.

Fibrine. — Le bacille I n'a aucune action sur la fibrine, que ce soit en présence ou à l'abri de l'air.

Gluten. — Le gluten est attaqué assez tardivement. Ce n'est qu'au bout de quarante-huit heures que le bouillon se trouble, que les couches supérieures du gluten se gonflent et se dissolvent. La dissolution se poursuit lentement. Quand elle est complète, au bout d'une quinzaine de jours environ, le liquide est trouble et exhale une odeur forte, désagréable. Au fond du ballon se trouve un abondant précipité blanc jaunâtre.

A l'abri de l'air, la dissolution se fait encore plus lentement.

Sucre de canne. — La solution louchit au bout de vingt-quatre heures. La réaction est faiblement acide au bout de trente-six heures. Il n'y a pas, à ce moment, trace d'interversion. Le liquide paraît contenir un peu d'acide butyrique. Au bout de quarante-huit heures, le liquide décolore faiblement la liqueur de Fehling et colore en pourpre la solution de carmin d'indigo à chaud. Il y a donc formation d'une petite quantité de glucose.

A l'abri de l'air, la formation d'acide butyrique est plus appréciable.

Glucose. — Le développement du bacille I dans le glucose s'accompagne d'un léger dégagement de gaz. Le liquide présente une réaction acide qui va en s'accentuant. L'acide qui se forme est de l'acide butyrique. Au quatrième ou cinquième jour, la solution réduit encore énergiquement la liqueur cupro-potassique.

Dans la solution de glucose additionnée de craie, le dégagement gazeux est plus abondant. Le liquide, au bout de cinq ou six jours, contient du butyrate de chaux et de l'acide butyrique libre. Une grande partie du glucose a disparu à ce moment. A l'abri de l'air, une action fermentatrice marquée s'établit; quand le liquide est additionné de craie, le dégagement gazeux est considérable. Il se forme une assez grande quantité d'acide butyrique.

Amidon. — Au bout de trente-six heures, pas trace de fluidi-

fication. L'empois est trouble et exhale une odeur à la fois putride et aigrelette. Sa réaction est faiblement acide. Au bout de quarante-huit heures, neutralisé, il ne réduit pas la liqueur de Fehling. Au bout de trois jours, il la décolore et fait virer au jaune la solution de carmin d'indigo. Au quatrième jour, la présence du glucose est plus manifeste. L'acide qui se forme est de l'acide butyrique. Il se forme en plus grande quantité à l'abri de l'air.

Conclusion. — Ce microbe coagule le lait par suite de la transformation du lactose en acide lactique ;

Il n'a aucune action sur la caséine ;

Il dissout rapidement et complètement l'albumine;

Il n'a aucune action sur la fibrine ;

Il dissout très lentement le gluten;

Il transforme en partie le gluten en acide butyrique;

Il intervertit une faible portion du sucre de canne ;

Il forme aux dépens de l'amidon un peu de glucose et de l'acide butyrique.

BACILLUS BUTYRICUS.

J'ai étudié l'action de ce microbe sur les substances alimentaires dans des ballons privés d'air. A la liste des substances alimentaires, j'ai ajouté la cellulose fraîche. J'ai employé pour cela des fragments pris au centre de pommes de terre crues. Ces fragments étaient introduits dans du bouillon faible additionné de craie. Je faisais ensuite, après l'ensemencement, le vide au moyen de la trompe et en maintenant les tubes à une température de 40°, de façon à provoquer l'ébullition. Je remplissais enfin le vide produit avec de l'hydrogène. Je dois ajouter que les fragments de pommes de terre (pris avec toutes les précautions voulues) une fois introduits dans du bouillon faible, les

tubes étaient maintenus à l'étuve pendant une semaine. Je n'utilisais que ceux qui restaient stériles.

Lait. — Ensemencé dans du lait, ce microbe détermine sa coagulation dans un laps de temps variant de vingt-quatre à quarante-huit heures. Le coagulum est blanchâtre, assez mou. Lentement, ce caillot se fragmente, les morceaux se délitent et forment des grumeaux de volume inégal, en suspension dans un liquide louche, grisâtre. Il y a en même temps un léger développement de gaz. Cette fragmentation et cette érosion du coagulum se produisent au bout de huit à dix jours environ. Avec le temps, comme l'a vu très bien vu Hüeppe, la caséine précipitée se décompose en peptones, leucine, tyrosine, butyrate d'ammoniaque et substances amères. Au bout de vingt jours, il reste encore un grand nombre de grumeaux de caséine. Sa dissolution se fait donc très lentement.

Quand le liquide est additionné de craie, le dégagement de gaz est beaucoup plus considérable, le caillot qui se forme est fragmenté par ces gaz.

Lactose. — Dans une solution du lactose, le Bacillus butyricus se développe bien aux dépens du bouillon, mais il n'attaque pas le lactose, même quand la solution est additionnée de craie.

Albumine. — Ensemencé dans du bouillon contenant de l'albumine, il trouble d'abord le liquide ; puis, lentement, les fragments d'albumine se désagrègent et forment au fond du récipient un précipité granuleux très abondant. Il y a en même temps dégagement de gaz. La réaction du liquide devient acide et l'albumine est lentement décomposée. Quand on ouvre le récipient, on perçoit assez nettement l'odeur de l'acide butyrique.

Le microbe n'a aucune action sur la *fibrine*.

Sucre de canne. — La solution se trouble au bout de vingt-quatre heures. Il se produit un dégagement de gaz assez abondant. A ce moment, le liquide réduit la liqueur cupro-potassique et présente une réaction acide très nette. On trouve des proportions assez fortes d'acide butyrique en solution. Cette proportion augmente les jours suivants, puis l'action se suspend. A ce moment, le liquide contient une grande quantité d'acide butyrique.

Quand la solution est additionnée de craie, l'action se poursuit plus longtemps, surtout si l'on a soin d'agiter le ballon de temps en temps, de façon à bien mélanger la craie au liquide. L'acide qui se forme est alors neutralisé et ne gêne pas le développement du microbe. Le dégagement gazeux est, dans ces conditions, plus abondant.

Glucose. — Fermentation au bout de douze heures. Dégagement gazeux abondant. Réaction acide. Le liquide réduit pourtant encore énergiquement la liqueur de Fehling. Au bout de vingt-quatre heures, la fermentation continue. Elle diminue à partir du troisième jour et s'arrête vers le cinquième. A ce moment, le liquide réduit encore le réactif cupro-potassique. Il contient une assez grande quantité d'acide butyrique.

Quand la solution est additionnée de craie, le dégagement gazeux est plus abondant. Le liquide est pourtant acide et dégage une forte odeur d'acide butyrique. Au bout de quarante-huit heures, la solution ne réduit plus la liqueur de Fehling. Tout le glucose s'est transformé en acide butyrique.

Amidon. — L'empois d'amidon est attaqué énergiquement ; il se produit un abondant dégagement de gaz. L'empois est rapidement fluidifié. Il est d'abord transformé en glucose, mais le glucose n'a qu'une existence éphémère : il est très vite transformé en acide butyrique. Au bout de trente-six heures, le liquide ne réduit plus le réactif cupro-potassique.

Cellulose. — Ce microbe décompose aussi la cellulose. Cette action est accompagnée d'un dégagement gazeux abondant. Au bout de cinq ou six jours, les fragments de pommes de terre ont presque complètement disparu. L'enveloppe des grains de fécule est détruite. Il se forme au début une certaine quantité de glucose, mais il m'est difficile de dire si ce glucose provient de la transformation de la cellulose ou de la fécule. Une certaine quantité de fécule se dépose au fond du récipient. Il se forme en même temps de l'acide butyrique qui est neutralisé en partie par la craie.

VIBRIO RUGULA.

L'action du Vibrio rugula a été étudiée sur des substances alimentaires, dans des ballons absolument privés d'air.

Lait. — Il coagule le lait au bout de trente-six heures. Le coagulum est volumineux, blanc, compact. Il se produit en même temps un dégagement de gaz. Le caillot se redissout peu à peu. Au bout de quarante-huit heures, une bonne partie de la caséine solide a disparu. Le liquide est un peu louche. Au bout de cinq ou six jours, la dissolution est complète. Le liquide est jaunâtre et clair. Il ne présente pas de réaction acide et exhale une odeur fortement putride.

Lactose. — Le Vibrio rugula se développe aux dépens du lactose, comme l'a observé Vignal, en le transformant en un produit particulier, qui n'est pas de l'acide lactique. Pourtant tout le lactose, au bout d'une huitaine de jours, a disparu.

Albumine. — Au bout de vingt-quatre heures, l'albumine est vivement attaquée et décomposée avec production de gaz. Les cubes d'albumine sont d'abord gonflés, puis dissous au bout de quatre ou cinq jours. Le liquide est louche et blanchâtre. Il n'y a pas de dépôt au fond du ballon. Les produits de cette action présentent une odeur fécaloïde caractéristique.

Fibrine. — La fibrine est aussi attaquée et décomposée par le Vibrio rugula, mais moins rapidement. Les filaments de fibrine sont d'abord gonflés, puis rongés et dissous. Le liquide est très trouble. Au fond du ballon, on voit un précipité noir. Il y a aussi formation de produits volatils putrides.

Gluten. — La dissolution du gluten exige beaucoup plus de temps. Au bout de sept ou huit jours, elle n'est pas encore complète. Le liquide reste très trouble. Au fond du ballon, on voit un abondant précipité noirâtre.

Sucre de canne. — Le Vibrio rugula se développe bien aux dépens des éléments azotés du bouillon, mais il n'a aucune action sur le sucre de canne.

Glucose. — Pas de transformation non plus.

Amidon. — L'amidon est décomposé avec mise en liberté de gaz. Au bout de quarante-huit heures, il réduit faiblement la liqueur de Fehling. Cependant, au bout de sept ou huit jours, il existe encore une grande quantité d'amidon intact, comme l'indique la coloration que prend l'empois sous l'influence de la teinture d'iode.

Conclusion. — Le Vibrio rugula coagule le lait. C'est très probablement grâce à une présure, bien que je n'aie pu la déceler. Il redissout rapidement le coagulum ;

Il dissout rapidement l'albumine, la fibrine, beaucoup plus lentement le gluten ;

Il ne transforme pas le lactose en acide lactique ;

Il n'a aucune action sur le glucose et le sucre de canne ;

Il transforme partiellement l'empois d'amidon en glucose.

Si nous voulons maintenant résumer dans une vue d'ensemble l'action de ces micro-organismes sur les substances alimentaires, nous trouvons que :

Pour l'*albumine*	5 microbes la dissolvent rapidement et complètement.
	5 la dissolvent partiellement.
Pour la *fibrine*	4 la dissolvent complètement et rapidement.
	6 l'attaquent bien, mais ne la dissolvent qu'incomplètement.
	2 l'attaquent faiblement et ne la dissolvent que lentement et en partie.
Pour le *gluten*	2 le dissolvent assez rapidement et en totalité.
	3 le dissolvent lentement mais complètement.
	1 l'attaque assez énergiquement.
	4 le dissolvent lentement et partiellement.
Pour la *caséine*	10 la dissolvent à peu près complètement.
	2 la dissolvent lentement et partiellement.
Pour le *lactose*	8 le transforment assez rapidement (totalement ou partiellement) en acide lactique.
	2 lentement et faiblement.
Pour le *sucre de canne*	3 l'intervertissent rapidement et énergiquement.
	4 plus faiblement.
	1 très faiblement.
Pour le *glucose*	6 forment à ses dépens des quantites notables d'alcool.
	5 n'en forment que de faibles quantités ou des traces.
Pour l'*amidon*	5 fluidifient et saccharifient rapidement l'empois d'amidon.
	3 le saccharifient partiellement.
	5 ne donnent que des traces de glucose.

Enfin, un autre microbe a pour caractère essentiel de former des quantités considérables d'acide butyrique aux dépens des hydrocarbonés et de décomposer la cellulose.

En somme, on voit que tous les microbes qui se trouvent dans l'estomac agissent avec plus ou moins de rapidité et d'énergie sur les substances alimentaires. Un assez grand nombre amènent des transformations très rapides. Il est donc permis de penser que ces microbes interviendront pour une assez large part dans la digestion.

TROISIÈME PARTIE

ACTION D'ENSEMBLE DES MICROBES SUR CHAQUE SUBSTANCE ALIMENTAIRE.

Les expériences dont j'ai donné les résultats ont été faites avec des micro-organismes purs de tout mélange. Mais dans le tube digestif il n'en est pas ainsi : les micro-organismes agissent tous à la fois. Ils peuvent donc, soit se gêner les uns les autres, soit plutôt additionner leurs actions, en formant une véritable société de secours mutuels, selon l'expression de Duclaux, les produits formés par certains étant amenés par d'autres à des degrés de transformation plus avancés. Nous pouvons donc penser, *à priori*, que le mélange des microbes, l'association de leurs actions déterminera la transformation plus énergique et plus rapide d'une substance alimentaire. C'est d'ailleurs une question à laquelle va répondre l'expérience.

Pour étudier l'action d'ensemble des micro-organismes, j'ai introduit une quantité assez considérable de substances alimentaires dans une série de ballons de un litre de capacité environ :

50 gram. d'albumine cuite pour 500 gram. de bouillon faible.
50 — de fibrine..... — —
30 — de gluten..... pour la même quantité de liquide.
50 — de caséine..... —
20 gram. de lactose, 20 gram. de sucre de canne, 20 gram. de glucose, pour 500^{cc} de bouillon faible. — 500^{cc} d'empois d'amidon à 2 0/0 et 500^{cc} de lait écrémé.

Une seconde série de ballons renfermait ces substances dans les mêmes proportions et, de plus, une certaine quantité de carbonate de chaux légivé.

Chaque ballon était ensemencé avec quelques gouttes d'un bouillon renfermant tous les micro-organismes ensemencés depuis trois jours en proportions égales. Ces ballons, une fois ensemencés, étaient naturellement placés dans l'étuve à 37°. Avant d'entrer dans les détails des observations, je dois dire que j'ai fait également, dans cette série d'expériences, la recherche des produits de transformation immédiate et avancée. Comme j'avais à ma disposition une quantité considérable de matières, il m'a été possible de rechercher les produits volatils de la putréfaction, comme l'indol, le scatol. Je l'ai fait suivant les procédés indiqués par Duclaux dans son *Traité de Microbiologie* (pag. 756).

Lait. — Au bout de quinze heures, le lait est coagulé, mais le caillot ne forme pas une masse compacte homogène. Il est fragmenté et boursouflé par suite du dégagement gazeux qui se produit. Le liquide dans lequel baignent les caillots est incolore, presque limpide ; sa réaction est fortement acide. Au bout de trente-six heures, la quantité de caséine solide ne paraît pas avoir sensiblement diminué ; les caillots sont seulement un peu plus friables. Le liquide est grisâtre et semi-transparent ; son odeur est aigre ; le dégagement de gaz a presque cessé. Au bout de quarante-huit heures, la caséine ne paraît pas avoir subi de dissolution. Le liquide est louche, légèrement jaunâtre et fortement acide. L'odeur n'a pas changé. Au fond du ballon on voit un dépôt blanc, peu considérable, formé de phosphate de chaux. Le liquide analysé à ce moment renferme une forte proportion d'acide lactique. Neutralisé, il réduit encore cependant la liqueur de Fehling. Au troisième jour, l'aspect de la culture n'a pas changé ; les caillots sont seulement devenus un peu plus friables. Au bout de dix jours, on trouve encore des fragments de caséine nombreux et volumineux. Le liquide ambiant est clair, très fluide et grisâtre. Sa réaction est fortement acide, l'odeur est la même.

Dans le lait additionné de craie, la coagulation se produit aussi et dans le même délai. Les caillots sont moins volumineux, plus fragmentés. Le carbonate de chaux est attaqué et le dégagement de gaz plus abondant. Malgré la présence de la craie, le liquide est nettement acide. Au bout de trente-six heures, les caillots sont rongés et commencent à se dissoudre. Le liquide est louche grisâtre. Son odeur est aigrelette, mais en même temps le milieu présente un relent d'acide butyrique. Le dégagement gazeux a diminué. Au bout de quarante-huit heures, la dissolution de la caséine s'accentue un peu. Les fragments, rongés et délités, forment au fond du ballon un dépôt granuleux, blanchâtre au quatrième jour ; le liquide, neutralisé et filtré, ne réduit presque plus la liqueur cupro-potassique. Le lactose a donc disparu à peu près complètement et s'est transformé en acide lactique. Une partie de cet acide s'est combinée à la chaux, pour former du lactate de calcium qui est partiellement décomposé et donne de l'acide butyrique.

Au bout de dix jours, les caillots sont fortement désagrégés ; néanmoins il reste beaucoup de caséine solide. Le liquide est trouble, acide, et n'exhale pas de mauvaise odeur. Filtré et neutralisé, il ne réduit plus la liqueur de Fehling. Au bout de vingt jours, il reste encore une forte proportion de caséine non dissoute; cependant on a vu que certains micro-organismes dissolvaient rapidement, en culture pure, la caséine. On doit attribuer cet arrêt de la peptonification à l'acidité du milieu qui empêche l'action des caséases. En effet, si l'on neutralise complètement le milieu, tous les jours, avec une solution de soude stérilisée, la dissolution est beaucoup plus active. La caséase a donc besoin, comme les diastases du pancréas, d'un milieu neutre ou légèrement alcalin.

Lactose. — Au bout de quinze heures, la solution de lactose est fortement troublée et un dégagement gazeux assez abondant se produit. Ces bulles gazeuses forment à la surface une

mousse blanche assez épaisse. La réaction du milieu est franchement acide. On ne voit ni dépôt ni membrane superficielle. Le liquide exhale une odeur légèrement aromatique. Au bout de trente-six heures, le trouble persiste, ainsi que le dégagement de gaz, mais celui-ci a sensiblement diminué. La réaction est fortement acide. Au bout de quarante-huit heures, le liquide est toujours trouble, mais le dégagement gazeux a presque cessé. Au troisième jour, le liquide renferme encore une assez grande quantité de lactose, mais il tient aussi en solution une forte proportion d'acide lactique. Au bout des trente-six premières heures, je trouve aussi de l'alcool en quantité appréciable. Cette quantité d'alcool diminue avec le temps. Au bout de dix jours, presque tout le lactose a disparu.

La solution de lactose additionnée de craie présente au bout de quinze heures le même aspect, la même odeur, mais le dégagement de gaz est plus abondant. Le carbonate de chaux paraît assez vivement attaqué, mais il en reste encore au fond du ballon une quantité assez considérable. Au bout de trente-six heures, pas de changement apparent. Le dégagement de gaz est moins considérable. La réaction acide est un peu plus faible que dans la solution de lactose pure. Au bout de quarante-huit heures, une certaine quantité de craie a disparu ; le trouble persiste, le dégagement gazeux a beaucoup diminué. Au quatrième jour, le liquide n'est plus acide ; il exhale une forte odeur d'acide butyrique. Neutralisé et filtré, il ne réduit plus la liqueur de Fehling. Additionné d'acide sulfurique et distillé, le liquide me donne une assez grande quantité d'acide butyrique. Le résidu de la distillation traité par l'oxyde de zinc après neutralisation donne, par évaporation, un abondant dépôt de lactate de zinc.

En résumé, le lactose est transformé en acide lactique. Celui-ci a formé avec la craie du lactate de calcium, dont une bonne partie est transformée en butyrate de calcium.

Caséine. — Au bout de quinze heures, trouble intense. Pas de dégagement gazeux visible. Les fragments de caséine commencent à se déliter. Le milieu exhale une odeur fortement putride, fécaloïde. Au bout de trente-six heures, trouble persistant et odeur infecte. La quantité de caséine diminue d'une façon assez appréciable. Faible dégagement de gaz. Au bout de quarante-huit heures, les fragments de caséine ont diminué de volume. Au troisième jour, la caséine délitée forme un abondant dépôt blanchâtre pulvérulent. La réaction du liquide est légèrement acide. Au bout de dix jours, il reste encore au fond du ballon un dépôt blanchâtre assez abondant. La mauvaise odeur persiste; le liquide s'est un peu éclairci; la réaction est devenue faiblement alcaline.

Dans le ballon contenant de la craie, trouble intense. Au bout de vingt-quatre heures, commencement de dissolution. Dégagement gazeux plus marqué, odeur putride moins prononcée. Au bout de quarante-huit heures, la dissolution de la caséine a fait des progrès sensibles. Pas de réaction acide. On trouve à ce moment une assez grande quantité de peptones. Au bout de dix jours, la dissolution de la caséine est à peu près complète. On trouve à ce moment de la leucine, de la tyrosine, des composés ammoniacaux, des acides gras, parmi lesquels l'acide butyrique et une quantité appréciable de scatol.

Albumine. — Au bout de quinze heures, trouble très marqué, dégagement gazeux assez net. Les fragments d'albumine sont simplement gonflés, mais non encore dissous. Le liquide exhale une odeur infecte, très forte et irritante. Au bout de vingt-quatre heures, les cubes d'albumine sont plus gonflés. Au bout de trente-six heures, désagrégation et dissolution partielle; dégagement gazeux presque nul. L'albumine, qui n'est pas encore dissoute, forme un dépôt composé de deux couches : une couche supérieure formée de détritus très fins, une couche

inférieure formée de grumeaux plus volumineux. L'odeur est toujours extrêmement putride. Au bout de quarante-huit heures, les fragments d'albumine sont complètement porphyrisés, à part quelques fragments très rares, à peu près intacts. Le liquide est toujours très trouble. Au troisième jour, la dissolution est plus avancée, la réaction du milieu est faiblement alcaline. On trouve, en solution, une grande quantité de peptones. Au dixième jour, l'albumine est presque entièrement dissoute. On voit au fond du ballon un dépôt nuageux grisâtre assez abondant. On trouve alors dans le liquide de la leucine, de la tyrosine, du carbonate, du valérianate et du butyrate d'ammoniaque, ainsi que du scatol. Le liquide est jaunâtre, trouble, assez fortement alcalin. L'odeur est toujours extrêmement désagréable, surtout ammoniacale.

Quand le bouillon est additionné de craie, la dissolution de l'albumine suit la même marche pendant les trente-six premières heures. Le liquide se trouble fortement; l'albumine se gonfle et est peu à peu rongée. Au bout de quarante-huit heures, la dissolution se fait avec assez de rapidité. Au bout de trois ou quatre jours, l'albumine solide a à peu près entièrement disparu. On perçoit à ce moment une odeur ammoniacale très nette. La distillation donne en effet de l'ammoniaque en assez grande quantité; on trouve, outre les peptones, les matières extractives habituelles.

Fibrine. — Au bout de quinze heures, le liquide dans lequel se trouve la fibrine est très trouble; il y a un faible dégagement de gaz. Les filaments de fibrine sont gonflés, quelques-uns sont déjà assez fortement rongés. Le liquide exhale une odeur putride très forte. La réaction est neutre. Au bout de trente-six heures, l'attaque est beaucoup plus énergique. Un peu moins de la moitié de la fibrine est dissoute. Le liquide tient en solution une certaine quantité de peptones. Au bout de quarante-huit heures,

la réaction est toujours neutre et même faiblement alcaline. Une assez grande quantité de fibrine a disparu. Celle qui reste est très friable. Le liquide est toujours très trouble et son odeur repoussante. Au troisième jour, la dissolution a un peu progressé. Au dixième jour, une certaine quantité de fibrine non dissoute reste encore dans le ballon ; le liquide est toujours trouble et jaunâtre et exhale une odeur ammoniacale assez nette. On trouve en effet de la leucine, de la tyrosine, des composés ammoniacaux et un peu de scatol.

Quand le bouillon est additionné de craie, le dégagement de gaz est un peu plus abondant que dans le cas précédent. La réaction du liquide est neutre, son odeur fortement putride. Au bout de trente-six heures, une faible quantité seulement de fibrine est dissoute. L'odeur putride est moins prononcée ; en revanche, on perçoit plus nettement l'odeur de l'acide butyrique. Au bout de quarante-huit heures, l'attaque est plus énergique. Au bout de trois jours, une grande quantité de fibrine est dissoute. Au dixième jour, la presque totalité de la fibrine a disparu. Le liquide est trouble, son odeur est fécaloïde et ammoniacale, sa réaction franchement alcaline.

Gluten. — Au bout de quinze heures, trouble intense, odeur putride forte. Gluten fortement gonflé. Au bout de trente-six heures, même état. Au bout de quarante-huit heures, les couches supérieures sont désagrégées. La réaction du liquide est à ce moment faiblement acide, mais cette acidité disparaît au fur et à mesure que la dissolution fait du progrès. Cependant le gluten ne se dissout pas aussi rapidement que l'albumine et la fibrine. Au dixième jour, il existe dans le ballon une assez grande quantité de gluten fortement gonflé, il est vrai, mais non dissous encore.

Avec la craie, les choses se passent de même. Au dixième jour, le liquide exhale une odeur ammoniacale assez prononcée

et contient en effet des matières extractives, des composés ammoniacaux et du scatol.

Sucre de canne.— Trouble intense au bout de quinze heures et abondant dégagement de gaz. La réaction est déjà fortement acide ; le liquide exhale une odeur un peu aromatique. Neutralisé, il réduit énergiquement le réactif cupro-potassique. Je fais le dosage du glucose à ce moment et je trouve que 100 gram. de liquide contiennent 3 gram. de sucre interverti. Neutralisé et distillé, le liquide me donne une assez forte proportion d'alcool. Distillé en présence de l'acide sulfurique, il fournit des acides gras volatils, parmi lesquels l'acide butyrique et l'acide acétique. Dans le liquide resté dans la cornue, on trouve une grande quantité d'acide lactique. Au bout de quarante-huit heures, le trouble persiste, mais le dégagement gazeux diminue. Le liquide réduit encore énergiquement la liqueur de Fehling. Cette réduction devient plus faible avec le temps, mais elle est encore assez nette au dixième jour. La réaction est à ce moment fortement acide.

Dans la solution additionnée de craie, le liquide se trouble fortement au bout de quinze heures. Il y a un dégagement de gaz abondant. La réaction est faiblement, quoique nettement, acide. Le liquide neutralisé réduit assez nettement la liqueur de Fehling, mais le dosage du glucose en indique une quantité plus faible que dans le premier ballon. On trouve aussi une proportion moindre d'alcool. Au bout de quarante-huit heures, le dégagement gazeux n'a pas sensiblement diminué. On perçoit une assez forte odeur d'acide butyrique. Au dixième jour, on voit à la surface du liquide des croûtes cristallines, minces et friables, formées de sels d'acides gras, lactate, butyrate de chaux. On trouve aussi de l'acide acétique.

Glucose.— Au bout de quinze heures, trouble très marqué. Dégagement assez abondant de gaz ; odeur fade, mais non pu-

tride ; réaction acide très nette. Au bout de trente-six heures, le trouble persiste, mais le dégagement de gaz a beaucoup diminué.

On perçoit une odeur, mais faible, d'acide butyrique. La réaction est fortement acide. Neutralisé et distillé, le liquide me donne une quantité assez considérable d'alcool. Au bout de quarante-huit heures, cette quantité d'alcool diminue, le trouble persiste, le dégagement gazeux a cessé. Odeur fade et désagréable; neutralisée et traitée par la liqueur de Fehling, la solution la réduit encore énergiquement. Neutralisé et distillé en présence de l'acide sulfurique, le liquide donne de l'acide butyrique et de l'acide acétique. Dans le résidu on trouve de l'acide lactique. Au bout de dix jours, la solution est encore trouble. Au fond du ballon on voit un dépôt floconneux jaunâtre. Pas de mauvaise odeur, réaction acide. Réduction nette, quoique assez peu énergique, de la liqueur cupro-potassique.

Quand on a ajouté de la craie à la solution, il se produit, au bout de quinze heures, un développement de gaz très abondant. A la surface du liquide, on voit un *chapeau* de mousse qui arrive jusqu'au tampon d'ouate. La réaction du liquide est moins acide que dans le cas précédent. Le trouble est très considérable. Au bout de trente-six heures, le dégagement gazeux a légèrement diminué. Le carbonate de chaux est vivement attaqué. La réaction acide est nette. Neutralisé et distillé, le liquide fournit de l'alcool. Au bout de quarante-huit heures, le trouble persiste, le dégagement gazeux aussi. Il existe encore au fond du ballon une petite quantité de craie. La réaction est acide, mais plus faiblement que dans le premier ballon. On perçoit une odeur prononcée d'acide butyrique. Neutralisé, filtré et traité par la liqueur de Fehling, le liquide ne la réduit plus du tout. Tout le glucose a disparu. A ce moment, la distillation fournit de l'acide acétique et de l'acide butyrique. Ces acides sont combinés à la chaux, car la réaction du liquide, au bout de sept

à huit jours, est neutre. A la surface du liquide, on aperçoit une croûte cristalline mince et friable.

Amidon. — Au bout de quinze heures, l'empois d'amidon est fluidifié en partie. Il y a un abondant dégagement de gaz. Le liquide est trouble, la réaction acide. Neutralisé et traité par la liqueur de Fehling, le liquide la réduit énergiquement. L'odeur est un peu aigrelette. Traité par de l'alcool, de l'acide sulfurique et chauffé, le liquide exhale l'odeur d'ananas (acide butyrique). Au bout de trente-six heures, le dégagement gazeux persiste, la réaction est plus franchement acide, le liquide réduit plus faiblement la liqueur cupro-potassique. Au bout de trois jours, la fluidification est à peu près complète, il n'y a presque plus de glucose. On trouve à l'analyse les mêmes acides gras, volatils ou fixes, que dans la fermentation du glucose ou du sucre de canne. Au dixième jour, le liquide est toujours trouble. Au fond du ballon on voit un léger dépôt jaunâtre. La réaction est franchement acide et le liquide exhale l'odeur de l'acide butyrique.

Lorsque l'empois est additionné de craie, l'effervescence gazeuse est plus marquée au bout de quinze heures ; la fluidification est très avancée ; neutralisé, le liquide réduit très faiblement la liqueur cupro-potassique. Le glucose qui s'est formé a été rapidement transformé. Au bout de trente-six heures, dégagement gazeux encore abondant ; réaction moins acide que dans l'empois d'amidon pur. Traité par la liqueur de Fehling, le liquide ne la réduit plus d'une façon appréciable. Au bout de dix jours, la fluidification est complète. On voit à la surface du liquide des fragments de croûtes cristallines. Le trouble persiste, la réaction n'est plus acide. Il existe pourtant encore un peu de carbonate de chaux. Au fond du ballon est un dépôt floconneux jaunâtre. Le dégagement de gaz a cessé, le liquide exhale une forte odeur d'acide butyrique.

Dans toutes ces expériences, les matières alimentaires se décomposent avec production de gaz. J'ai essayé de faire une analyse grossière, simplement qualitative, de ces gaz. Pour cela, j'ai introduit dans un grand ballon toutes les substances albuminoïdes (que j'ai employées dans ces recherches) en suspension dans un litre de bouillon faible (20 gram. de chaque substance). Dans un second ballon, j'ai introduit 300^{cc} d'une solution de sucre de canne à 4 %, 300^{cc} d'une solution de lactose à 4 %, 300^{cc} d'une solution de glucose à 4 %, et enfin 300^{cc} d'empois d'amidon à 2 %.

Dans chacun de ces ballons, j'introduisais aussi 50 gram. de carbonate de chaux.

Chaque ballon était mis en communication avec une série de tubes à boules contenant : les uns, une solution d'acétate de plomb pour arrêter l'hydrogène sulfuré ; les autres, de l'eau de baryte pour arrêter l'acide carbonique ; les autres, une solution d'acide pyrogallique et de potasse pour fixer l'oxygène. L'appareil se terminait par un tube adducteur aboutissant à une éprouvette remplie d'eau.

Les gaz qui se produisaient pendant l'action de tous les microbes sur les substances hydrocarbonées étaient abondants. J'ai pu reconnaître parmi eux de l'acide carbonique en forte proportion et un gaz inflammable qui devait être de l'hydrogène, soit pur, soit mélangé à des hydrogènes carbonés.

Les gaz qui provenaient de la décomposition des albuminoïdes étaient beaucoup moins abondants ; c'étaient : de l'acide carbonique, de l'hydrogène sulfuré et de l'hydrogène, soit pur, soit mélangé à de l'hydrogène phosphoré ou carboné.

J'ai aussi essayé d'isoler les diastases qui interviennent dans la transformation des aliments sous l'influence de l'action combinée des microbes. Je n'ai pu réussir que pour le sucre de canne.

J'ai remarqué que l'interversion de ce sucre se produisait rapidement sous l'influence d'une sucrase qui détermine la

transformation du sucre candi en glucose, sans production de gaz. Il n'y avait pas non plus production d'acides.

CONCLUSIONS.

1° Il existe dans l'estomac, à l'état normal, des micro-organismes dont l'origine est multiple ; qui presque tous résistent bien au suc gastrique et dont plusieurs peuvent vivre et se développer dans des milieux très pauvres en oxygène.

2° Ces microbes exercent tous une action plus ou moins rapide, plus ou moins profonde, sur une ou plusieurs substances alimentaires.

3° Il faut distinguer dans l'action de ces microbes : 1° les transformations provenant des diastases qu'ils sécrètent ; 2° celles qui résultent de l'activité propre, de la vie des microbes. Les diastases n'opèrent que des transformations peu profondes, et cela sans développement de gaz. Comme conséquences de l'activité propre, de la vie des microbes, on observe des transformations plus profondes des aliments, s'accompagnant souvent d'une production de gaz et amenant toujours la décomposition des substances alimentaires en produits de plus en plus éloignés de la matière initiale.

4° Il est permis de penser que les micro-organismes, pour la plupart, n'exercent aucune action importante sur les aliments dans l'estomac. Les aliments y séjournent, en effet, trop peu de temps (à l'état normal).

5° Ces microbes, entraînés avec le chyme dans l'intestin, trouvent là des conditions favorables à leur action : 1° séjour plus long des substances alimentaires ; 2° légère alcalinité du milieu.

6° L'action de ces microbes doit être très importante, comme le pensent Pasteur et Duclaux, puisque, *in vitro*, c'est-à-dire dans des conditions défavorables, beaucoup transforment rapidement les substances alimentaires.

7° Cette transformation est plus rapide, plus énergique, sous l'influence de tous les micro-organismes à la fois que sous l'influence d'une seule espèce de microbes.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

PASTEUR. — Communications diverses à l'Académie des Sciences.
MILNE-EDWARDS. — Leçons sur la physiologie, tom. VII, 1862.
DUCLAUX. — Ferments et maladies, 1882.
— Annales de l'Institut agronomique, 1882.
— Recherches sur la digestion. Comptes rendus, 1882, 1er semestre.
— Microbiologie, *in* Encyclop. chimique de Frémy, 1883.
NOTHNAGEL. — Die normal in den menschlichen Darmtlerrungen Workommenden niedersten (Planzlichen) Organismen. (Zeitz. f. klin. Med., tom. III, pag. 274, 1881.)
BRIEGER. — Zeits. f. physiol. Chem., tom. VIII, pag. 308.
B. BIENSTOCK. — Ueber die Bakterien der Fæces. (Fortschritte der Medecin, tom. I, pag. 609, 1883.)
TH. ESCHERICH. — Die Darmbakterien des Neugeborenen und Saüglings. (*Id.*, nos 16 et 17, 1885.)
FALKENHEIM. — Arch. f. exp. Patholog. u. Pharmakol. Bd 19.
DE BARY. — Archiv. fur experiment. Pathologie und Pharmakologie, tom. XX, pag. 243-271, 1885.
CROOKSHANK. — An introduction to practical bacteriology, 1885.
CORNIL et BABES. — Les Bactéries, 1886.
FLÜGGE. — Die Mikroorganismen, 2e édition, 1886.
VIGNAL. — Recherches sur les micro-organimes de la bouche et des matières fécales. (Archiv. de Physiol., 15 novembre 1886, 1er octobre 1887, 15 novembre 1887.
DE BARY. — Leçons sur les Bactéries, traduction française.

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 9 Juillet 1888.
Le Recteur de l'Académie,
Correspondant de l'Institut,
G. CHANCEL.

Vu et approuvé :
Montpellier, le 7 Juillet 1888.
Le Doyen,
A. CASTAN.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Planche I.

Fig. 1. — 1. Colonie superficielle au bout de 48 heures. — 2. Colonie profonde.

Fig. 2. — Culture par piqûre dans la gélatine en tube : 1. Au bout de 24 heures ; — 2. Au 4e jour ; — 3. Culture vue d'en haut.

Fig. 3. — Sarcines : 1. Dans les cultures ordinaires ; — 2. Dans une infusion de foin neutralisée et sucrée.

Planche. II.

Fig. 1. — 1. Colonie au début. — 2. Colonie plus avancée. — 3. Colonie avec liquéfaction commençante et auréole ciliée. — 4. Colonie adulte.

Fig. 2. — Culture par piqûre dans des tubes de gélatine : 1. Au bout de 36 heures ; — 2. Au bout de 4 jours.

Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie développée sur gélatine au bout de 36 heures.

Planche III.

Fig. 1. — Colonie superficielle développée sur la gélatine lactée (36e heure). — 2. Colonie développée sur la gélatine ordinaire (36e heure). — 3. Colonie profonde.

Fig. 2. — Culture par piqûre : 1. Au bout de 48 heures, gélatine ordinaire ; — 2. Au bout de 48 heures, gélatine lactée.

Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie développée sur la gélatine lactée (48e heure).

Planche IV.

Fig. 1. — Colonie superficielle développée sur la gélatine (24e heure). — 2. Colonie plus avancée. — 3. Colonie au 5e ou 6e jour.

Fig. 2. — Culture par piqûre au bout de 48 heures. — Culture par piqûre au bout de 7 ou 8 jours.

Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie de la gélatine au bout de 3 jours.

PLANCHE V.

Fig. 1. — Colonie développée sur la gélatine au bout de 36 heures.

Fig. 2. — 1. Culture par piqûre au bout de 24 heures. — 2. Culture par piqûre au bout de 48 heures.

Fig. 3. — Bacilles pris dans une colonie de la gélatine au bout de 36 heures.

PLANCHE VI.

Fig. 1. — 1. Colonie sur gélatine au bout de 24 heures. — 2. Colonie sur gélatine au bout de 36 heures. — 3. Colonie sur gélatine au bout de 48 heures.

Fig. 2. — Culture par piqûre au bout de 24 heures. — 2. Culture par piqûre au bout de 4 jours.

Fig. 3. — Coccus pris dans une colonie de la gélatine au bout de 36 heures.

PLANCHE VII.

Fig. 1. — Colonie développée sur la gélatine au bout de 36 heures.

Fig. 2. — Culture par piqûre au bout de 48 heures.

Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie développée sur la gélatine au bout de 48 heures.

PLANCHE VIII.

Fig. 1. — 1. Colonie développée sur la gélatine au bout de 24 heures. — 2. Colonie développée sur la gélatine (48e heure).

Fig. 2. — 1. Culture en tube au bout de 24 heures. — 2. Culture en tube au bout de 48 heures.

Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie de la gélatine au bout de 48 heures.

PLANCHE IX.

Fig. 1. — 1. Colonie profonde ; 1′ *idem.* — 2. Colonie superficielle au début. — 3. Colonie superficielle au bout de 36 heures.

Fig. 2. — 1. Culture en tube au bout de 24 heures. — 2. Culture en tube au bout du 3e jour.

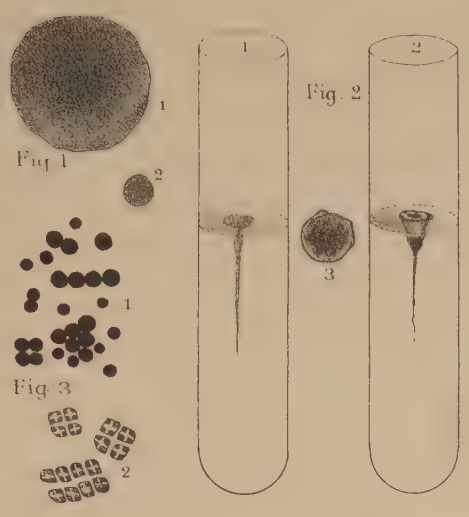
Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie sur la gélatine au bout de 36 heures.

PLANCHE X.

Fig. 1. — 1. Colonie sur la gélatine au bout de 24 heures. — 2. Colonie au bout de 48 heures.

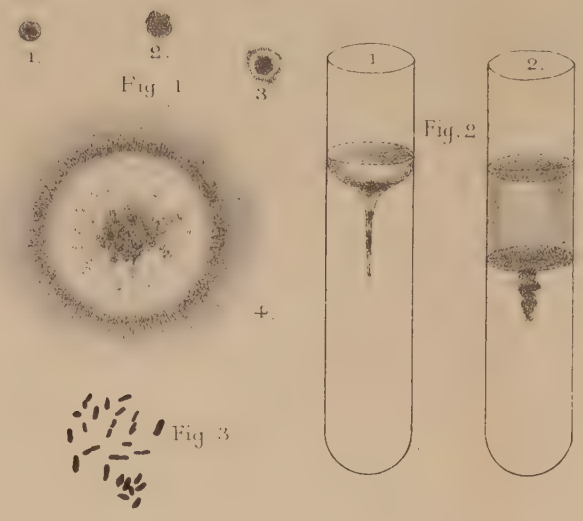
Pl. I.

Sarcina Ventriculi.

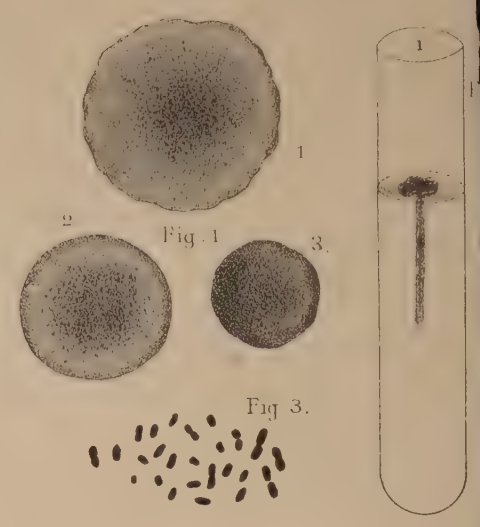


Pl. II.

Bacillus Pyocyaneus.

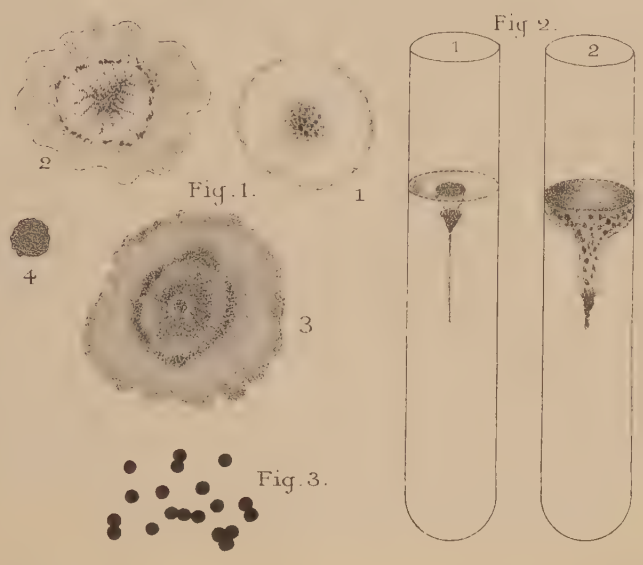


Bacterium Lactis Œroge



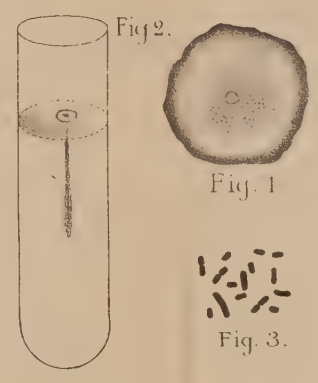
Pl. VI.

Coccus A.



Pl. VII.

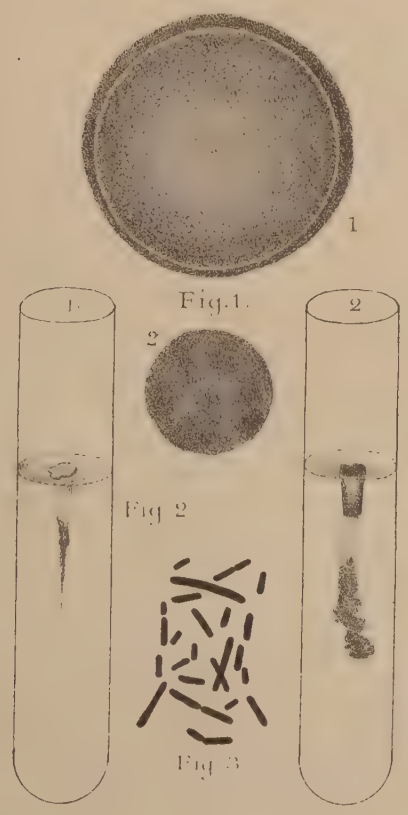
Bacille B.



Bacil

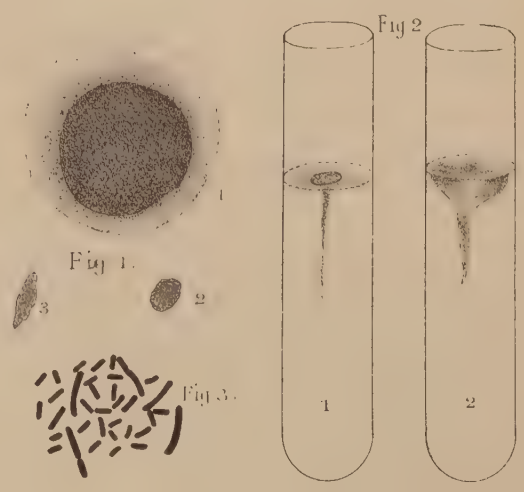
Pl. XI.

Bacille F.

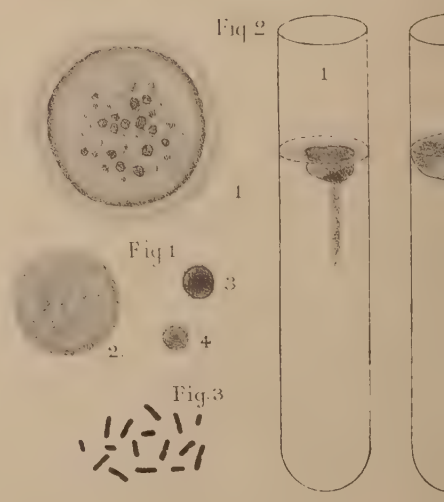


Pl. XII.

Bacille G.



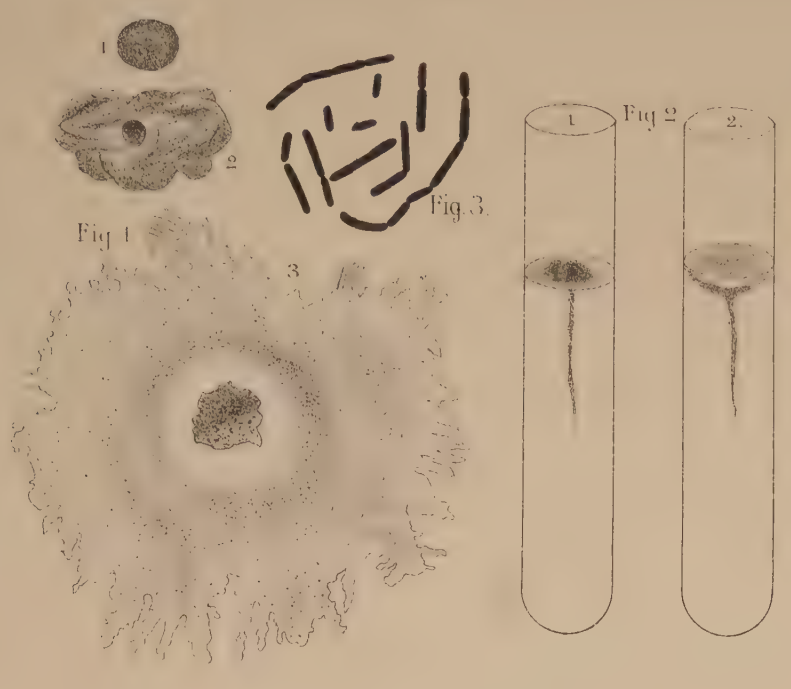
Bacille H.



Pl III.

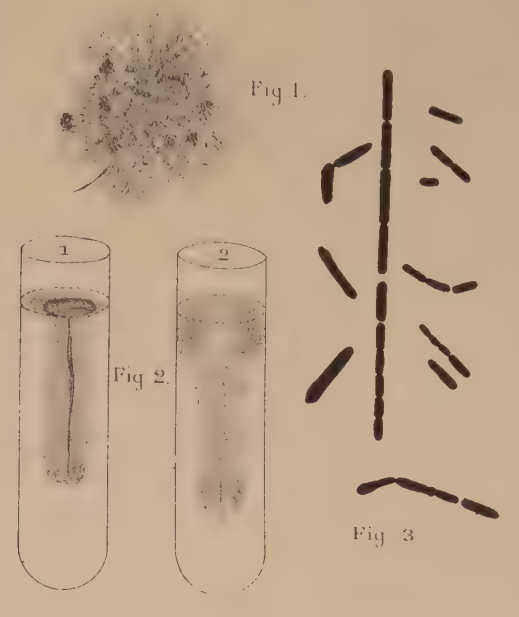
Pl. IV.

Bacillus Subtilis.

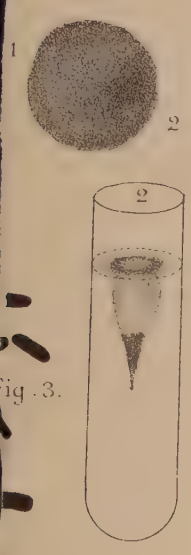


Pl. V.

Bacillus Mycoïdes

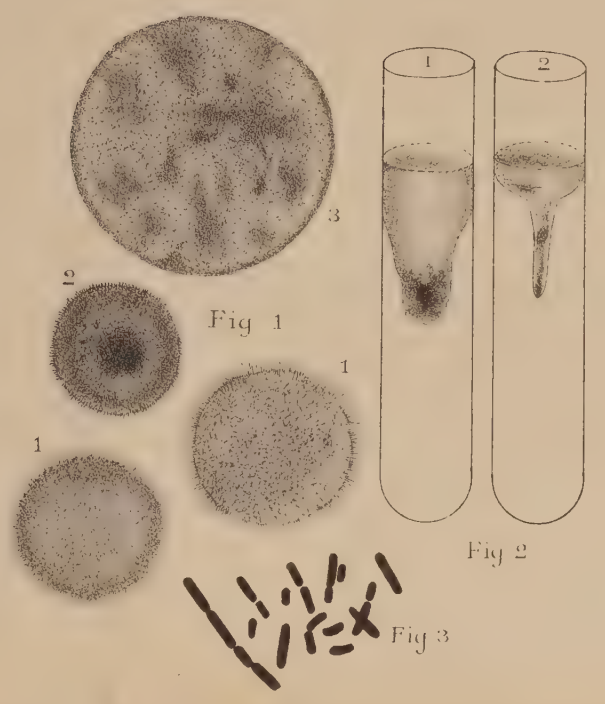


Pl. VIII.



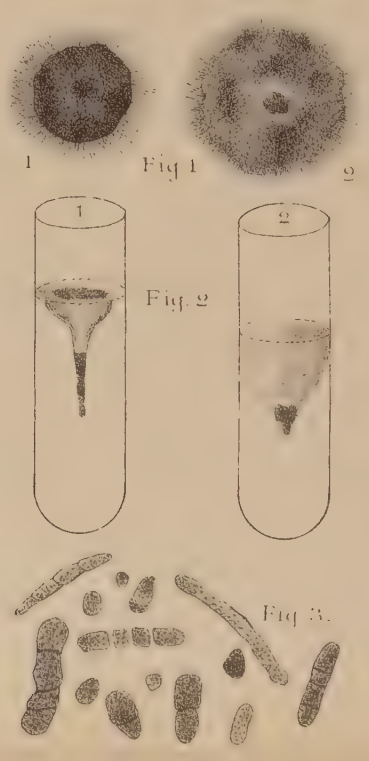
Pl. IX.

Bacille D



Pl X.

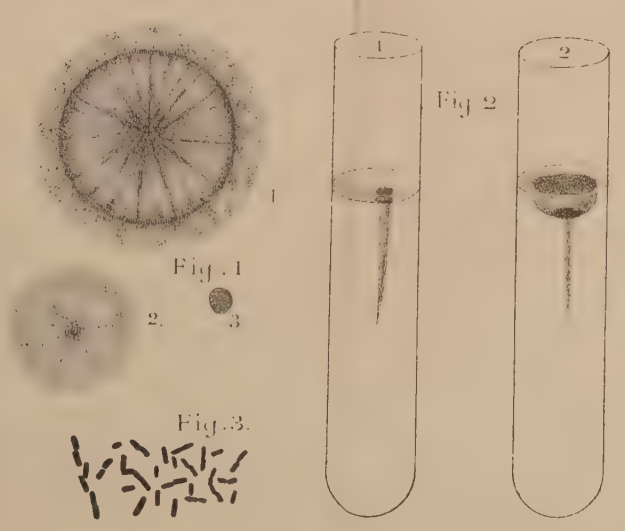
Bacille E.



Pl. XIII.

Pl. XIV.

Bacille I.



Pl. XV.

Bacillus butyricus.

T. Combes Lith Montpellier

Fig. 2. — 1. Culture en tube au bout de 24 heures. — 2. au 4e jour.
Fig. 3. — Bacilles pris sur l'agar-agar au bout de 24 heures.

PLANCHE XI.

Fig. 1. — 1. Colonie développée sur la gélatine au bout de 6 jours. — 2. Colonie profonde (48e heure).
Fig. 2. — 1. Culture en tube au bout de 48 heures. — 2. Culture en tube au bout de 6 jours.
Fig. 3. — Bacilles pris dans une colonie superficielle (6e jour).

PLANCHE XII.

Fig. 1. — 1. Colonie superficielle (36e heure). — 2. Colonie profonde. — 3 *idem.*
Fig. 2. — 1. Culture en tube au bout 24 heures. — 2. au 4e jour.
Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie de la gélatine au bout de 48 heures.

PLANCHE XIII.

Fig 1. — 1. Colonie superficielle au bout de 36 heures. — 2. Colonie superficielle au début. — 3. Colonie profonde.
Fig. 2. — 1. Culture en tube au bout de 24 heures. — 2. Culture en tube au bout de 3 jours.
Fig. 3. — Microbes d'une colonie superficielle au bout de 36 heures.

PLANCHE XIV.

Fig. 1. — 1. Colonie superficielle au bout de 36 heures. — 2. Colonie superficielle au début. — 3. Colonie profonde.
Fig. 2. — 1. Culture en tube au bout de 24 heures. — 2. Culture en tube au bout de 3 jours.
Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie superficielle au bout de 36 heures.

PLANCHE XV.

Fig. 1. — 1. Colonie superficielle au bout de 48 heures. — 2. Colonie profonde au bout de 24 heures.
Fig. 2. — 1. Culture en tube au bout de 24 heures. — 2. Culture en tube au bout de 3 jours.
Fig. 3. — Microbes pris dans une colonie de la gélatine au bout de 4 jours.

TABLE DES MATIÈRES.

Pages.

PRÉFACE..... VII

LES MICROBES DU TUBE DIGESTIF. — Introduction ; Coup d'œil historique..... 9

Technique..... 20

Culture sur plaques ; Nouveau procédé..... 23

Culture des anaérobies..... 24

Recherche et isolement des microbes de l'estomac..... 26

PREMIÈRE PARTIE. — Des microbes de l'estomac ; leur origine..... 29

Sarcina ventriculi..... 31

Bacillus pyocyaneus..... 34

Bacterium lactis ærogenes..... 39

Bacillus subtilis..... 42

Bacillus mycoïdes..... 45

Coccus A..... 48

Bacille B..... 51

Bacille C..... 54

Bacille D..... 57

Bacille E..... 61

Bacille F..... 64

Bacille G..... 67

Bacille H..... 70

Bacille I..... 73

Bacillus butyricus (ou amylobacter)..... 76

Vibrio rugula..... 79

Résistance des micro-organismes au suc gastrique..... 81

Action des microbes dans l'estomac et l'intestin..... 83

DEUXIÈME PARTIE. — Action des microbes de l'estomac sur quelques substances alimentaires..... 87
Recherche des produits de transformation..... 89
Sarcina ventriculi..... 90
Bacillus pyocyaneus..... 93
Bacterium lactis ærogenes..... 99
Bacillus subtilis..... 102
Bacillus mycoïdes..... 105
Coccus A..... 110
Bacille B..... 113
Bacille C..... 117
Bacille D..... 120
Bacille E..... 123
Bacille F..... 126
Bacille G..... 130
Bacille H..... 133
Bacille I..... 136
Bacillus butyricus..... 139
Vibrio rugula..... 142
Résumé de l'action des microbes..... 144
TROISIÈME PARTIE. — Action de tous les microbes à la fois sur chaque substance alimentaire..... 145
CONCLUSIONS..... 156
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE..... 158
EXPLICATION DES PLANCHES..... 159

SERMENT.

En présence des Maîtres de cette École, de mes chers Condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses!

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!